Pa 1956

ISSN 0484 8578

Tome 42 1978. Fascicule 3

# REVUE DE MYCOLOGIE

Directeur Roger HEIM Membre de l'Institut

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12 rue Buffon, 75005 PARIS

Ouvrage publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

Publication trimestrielle

Source : MNHN, Paris

## SOMMAIRE

M. MOREAU. – La mycoflore des bouchons de liège. Son évolution au contact du vin; conséquences possibles du métabolisme des moisissures . . . . . 155

G. MANACHERE. – Morphogénèse des carpophores de Basidiomycètes supérieurs. Connaissances actuelles . . . . . 191

G. VIENNOT-BOURGIN. – Origine et nature de la mycocécidie provoquée par le *Sphacelotheca cruenta*. . . . . 253

o
o o

Avec l'aide du temps, par G. Becker . . . . . 263

Les manuscrits doivent être adressés à Madame M. F. ROQUEBERT, Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

# REVUE
## DE
# MYCOLOGIE

Directeur : Roger HEIM

TOME QUARANTE DEUX

1978

COMITÉ DE LECTURE

MM. BOIDIN J. (Lyon), CAILLEUX R. (Paris), Mme CHARPENTIÉ M.J. (Paris), MM. GAMS W. (Baarn, Hollande), JOLY P. (Paris), MANGENOT F. (Nancy), MOUCHACCA J. (Paris), Mme NICOT J. (Paris), M. PEGLER D.N. (Kew, G. B.), Mme PERREAU J. (Paris), Mme ROQUEBERT M.F. (Paris), M. SUTTON B.C. (Kew, G.B.)

ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch.

Copyright © 1978, *Revue de Mycologie*

Éditeur : A.D.A.C.

Source : MNHN, Paris

# REVUE DE MYCOLOGIE

## CONTENTS

(Tome 42, Fasc. 3, 1978)

M. MOREAU. – The mycoflora of corks; its evolution in contact with wine; possible consequences of the moulds metabolism. . . . . 155

G. MANACHERE. – Advances in fruit-bodies morphogenesis of higher Basidiomycetes. . . . . 191

G. VIENNOT-BOURGIN. – Origine and nature of the mycocecidium caused by *Sphacelotheca cruenta*. . . . . 253

o
o o

Avec l'aide du temps, by G. Becker . . . . . 263

Source : MNHN, Paris

# LA MYCOFLORE DES BOUCHONS DE LIEGE

## Son évolution au contact du vin; conséquences possibles du métabolisme des moisissures

par M. MOREAU *

RÉSUMÉ. — Plusieurs moisissures non banales sont régulièrement isolées de bouchons neufs, issus de lots suspectés d'avoir provoqué de mauvais goûts à des vins. Ces espèces semblent contaminer les bouchons au cours de leur fabrication; longévives, elles trouvent refuge au coeur des tissus lenticellaires; elles peuvent proliférer dès qu'interviennent de faibles variations hygrométriques. Une corrélation existe entre les niveaux de contamination et les types d'emballages des balles.

Cette mycoflore préétablie disparaît rapidement au contact du vin; c'est pourquoi il n'est possible que d'en trouver des vestiges dans les lenticelles du tiers supérieur des bouchons prélevés sur des bouteilles de vin accidenté. Par contre, le *Penicillium roqueforti*, endémique dans les caves vinicoles, peut s'installer après bouchage, d'autant plus aisément que les bouchons étaient antérieurement indemnes de moisissures et qu'ils sont couverts d'une capsule métallique de surbouchage.

La plupart des espèces rencontrées n'étaient pas encore signalées sur le liège, mais leurs aptitudes métaboliques reconnues par ailleurs dans diverses biodétériorations ou biodégradations justifient de leur adaptation à ce substrat. Elles s'y installent en cortège; des hypothèses sont proposées concernant leur incidence possible sur les goûts dits «de bouchon».

SUMMARY. — Several unusual fungi are regularly isolated from new cork-stoppers in lots suspected to have altered the taste of wines. These long-living species seem to contaminate the stoppers during their fabrication by invading the lenticellar tissues. They may then proliferate as soon as hygrometry increases. A correlation is found between contamination levels and types of pack-wrappings.

The preestablished mycoflora rapidly disappears in the contact of wine. Thus it is only possible to find traces of it in the lenticels of the superior third of corks obtained from bottles containing altered wines. In contrast, *Penicillium roqueforti*, which is endemic in wine-cellars, may grow after stoppering, particularly when corks were previously free from fungi and are covered with a metallic cap.

Most of the encountered species had not been previously reported on cork but their metabolic abilities which are known from various biodeteriorations and biodegradations warrant their adaptation to the cork substrate where they install themselves in successive waves. Some hypothesis are proposed on the possible cause of cork-tasting wines.

* Laboratoire de Biologie Végétale et Microbiologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Bretagne Occidentale, 29283 Brest Cédex.



Source : MNHN, Paris

# INTRODUCTION

A plusieurs reprises, les hasards de notre activité professionnelle nous ont fait examiner des bouchons accusés d'avoir provoqué des goûts dits «de bouchon» à des vins. Parmi les espèces identifiées, l'une paraissait constante : le *Penicillium frequentans* Westl. Or, cette espèce venait d'être reconnue par LACEY (1973) comme très répandue dans l'atmosphère de fabriques de bouchons au Portugal et AVILA et LACEY (1974) la rendaient responsable d'une allergie respiratoire grave chez de nombreux ouvriers de ces usines : la subérose. Ces auteurs, décrivant succintement les divers traitements que subissent les lièges, dont plusieurs bouillages suivis de longues périodes de repos afin de pouvoir être façonnés, signalent l'abondance des moisissures qui les couvrent. Ils n'ont pas entrepris une étude systématique des espèces se développant ainsi, mais se sont uniquement intéressés à l'identité des spores les plus abondantes dans l'air inhalé par les ouvriers. Une vingtaine d'espèces sont ainsi retenues par eux, plusieurs Mucorales, plusieurs *Penicillium*, des *Neurospora*, *Trichoderma*, l'*Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud notamment.

Retrouvant régulièrement le *P. frequentans* sur des bouchons de vins accidentés, nous avons pensé que son origine n'était pas à rechercher dans les caves à vins, mais que cette espèce risquait d'être apportée avec les bouchons (MOREAU M., MOREAU C. et LE BRAS, 1976). La publication de ces résultats préliminaires a rapidement suscité l'intérêt des milieux professionnels apparemment très sensibilisés et nous a valu de matérialiser la gravité de certains accidents survenus au cours des années passées, accidents jusqu'ici inexpliqués, incontrôlables, occasions de procès aux issues incertaines.

Nous avons donc pu disposer de bouchons neufs, d'origines diverses, et observer que leur mycoflore était beaucoup plus variée que ne laissaient présumer nos premiers résultats, acquis sur des bouchons après usage; nous en verrons, dans ce mémoire, l'explication. Par ailleurs, nous avons pu mener une enquête complète dans une importante coopérative vinicole travaillant dans des conditions d'hygiène rigoureuses, à la suite d'un accident ayant concerné plusieurs dizaines de milliers de bouteilles de grands crus. Elles avaient été toutes obturées avec des bouchons de même origine, alors que des bouchons d'autres provenances, utilisés parallèlement, n'avaient pas posé de problème avec les mêmes vins. Dès qu'étaient intervenues les réclamations des clients et les retours de bouteilles, l'oenologue responsable avait bloqué d'une part les bouchons neufs suspects (il y en avait plus d'un demi million) et d'autre part les bouteilles encore en stock.

De l'ensemble de résultats acquis - grâce à quelque 30000 semis aseptiques - se dégagent des données concernant la richesse et la remarquable adaptation des espèces inféodées au liège. Or, à notre connaissance, la majorité des travaux qui ont abordé les relations entre les accidents de «goûts de bouchon» et les moisissures, même parmi les plus récents, parlent de «la moisissure verte», du «*Penicillium glaucum*» ou du «*Penicillium* sp.» (MARAIS et KRUGER,

Source : MNHN, Paris

1975).

Que soient ici remerciés tous ceux qui nous ont fourni le matériel dont nous avions besoin et nous ont fait part de leur expérience professionnelle, ainsi que notre efficace collaboratrice Anne-Marie LE BRAS.

Nous espérons que ce travail aidera les partenaires professionnels, jusqu'ici ignorants des faits, à mieux appréhender ce problème et, dès lors, prendre les mesures nécessaires pour y remédier.

# I - MATÉRIEL ET MÉTHODES

## 1. Le liège.

Ce tissu secondaire assure, chez les végétaux, une fonction de protection; il est isolant, imperméable. Pour que les échanges restent possibles entre les tissus profonds et l'extérieur, se différencient les lenticelles qui traversent le liège de part en part. Dans ces fins canalicules, les cellules séparées les unes des autres ménagent des espaces où pourront s'effectuer les échanges de gaz et de vapeur d'eau. A ce niveau, l'imperméabilité n'existe pas. Chez le *Quercus suber*, le liège prend une extension considérable mais sa structure anatomique est déjà responsable de plusieurs des qualités du bouchon.

Au cours de la différenciation du suber, les cellules meurent pendant que leurs parois s'imprègnent de subérine et de cires (longues chaînes lipidiques reconnues comme difficilement attaquables), de polyphénols (composés que les plantes élaborent aussi dès qu'elles doivent se protéger contre une agression parasitaire), de tannins (substances peu favorables au développement de micro-organismes). Le Chêne-liège est, avec le Châtaignier, la source essentielle des extraits tanniques utilisés dans le traitement des cuirs.

Le liège doit ses caractéristiques très originales et apparemment contradictoires (isolation, légèreté, élasticité, imperméabilité, aération, hydrophilie, grande résistance au vieillissement, aux attaques chimiques ou microbiologiques, etc.) à son rôle de tissu protecteur et aux transformations chimiques particulières qu'a subies ce matériau remarquable pour assumer cette fonction.

## 2. Quelques étapes de la préparation du liège et des bouchons.

Les planches de «liège brut», après leur récolte, sont mises à sècher plusieurs mois, puis triées. Le «liège marchand», après un premier bouillage qui assure son gonflement et augmente son élasticité, est entreposé de 3 semaines à 1 mois, après quoi, les «planches» sont classées et marquées pour la vente aux fabricants de bouchons.

Un second bouillage, à l'air libre ou en autoclave, suivi d'un second séjour de 3 à 8 semaines en caves fraîches interviennent afin de faciliter le façonnage

Source : MNHN, Paris

des bouchons.

La manière dont le liège est découpé fait que, à tous les niveaux, les lenticelles sont en position transversale par rapport au bouchon.

Les bouchons sont lavés dans un bain d'eau de Javel titré à 8°,rincés à l'eau douce puis dans un bain d'eau additionnée d'acides organiques (oxalique ou citrique) et éventuellement de colorants alimentaires.

Après séchage, divers traitements peuvent intervenir, tel le paraffinage. Le conditionnement se fait ensuite par balles de 10000 bouchons.

Remarques.

a) Plusieurs des étapes de la fabrication apparaissent hautement favorables à la prolifération de moisissures; d'ailleurs LACEY (1973) signale que, durant le stockage qui précède l'usinage, une mycoflore abondante s'épanouit sur le liège dès le quatrième jour et, du fait de manipulations fréquentes, l'ensemble des planches d'une cave est rapidement envahi. Ce sont les spores des plus proliférantes qu'il retrouve dans l'air inhalé par les ouvriers aux différents postes de travail : de 50 à 100 millions de spores par $m^3$ dans les locaux où les moisissures se développent, de 1 à 2,5 millions par $m^3$ aux divers postes d'usinage.

b) Il semble qu'il y ait peu à attendre de l'efficacité du bain désinfectant: solution d'eau de Javel peu concentrée, où seront lavés, par vagues successives, 2 millions de bouchons environ. Même à supposer que cette concentration soit respectée et suffisante pour tuer l'ensemble des microorganismes superficiels, connaissant la structure du liège, ses propriétés physiques et chimiques, il paraît illusoire, dans les délais de trempage, d'espérer voir pénétrer profondément la solution désinfectante. En effet, la tension superficielle entraîne en général la formation de bulles d'air à l'entrée des lenticelles. Puisque les moisissures ont eu, au cours de la fabrication des bouchons, de multiples occasions de proliférer, il paraît raisonnable de s'attendre à ce que les lenticelles leur constituent un refuge efficace, comme le sont déjà les structures pourtant beaucoup plus réduites chez les pommes vis à vis des parasites lenticellaires (MOREAU et al., 1964).

c) Quant au séchage, il ne peut être trop poussé au risque de faire perdre au liège ses qualités technologiques. Or, la structure même de ce matériau va entraîner des gradients d'humidité au sein d'un bouchon, et au sein d'une balle, pour peu que des emballages mal conçus et les aléas du stockage et du transport aient pour conséquences des condensations momentanées.

Nous pouvons considérer le liège, vis-à-vis des microorganismes, comme un «substrat sec» au même titre, par exemple, que des céréales (PELHATE, 1968) ou des farines (MOREAU, 1970). Dès lors, une très faible variation d'humidité relative suffira à faire franchir le seuil au delà duquel l'installation des espèces pionnières devient possible; elles amorceront la mise en place de

Source : MNHN, Paris

successions fongiques dont la constitution dépendra des fluctuations de l'hygrométrie, de la température, de la présence de molécules nutritives ou toxiques résultant du métabolisme des espèces qui les ont précédées.

## 3 - Conditions de cultures des moisissures.

a) milieux nutritifs

Après en avoir essayé plusieurs afin d'exprimer le plus largement l'ensemble de la flore, nous avons retenu le milieu de malt à 2% complémenté en extrait de levure qui convient à la majorité des espèces et parallèlement le milieu de malt à 5% additionné de ClNa à 5%. Ces deux milieux sont gélosés et coulés en boîtes de Pétri; dans la suite, ils seront désignés: $M_2$lev; $M_5S_5$.

b) températures d'incubation

22°C étant la température de référence, nous avons, dans nos premiers essais, retenu aussi celle de 12°C, commune dans les caves à vins. Nous nous sommes aperçue que toutes les espèces auxquelles nous étions confrontée poussaient bien à 12° mais encore mieux à 22°C. Par la suite, seule cette dernière température fut retenue.

Les semis sont régulièrement suivis car, si certaines espèces très prolifiques ou très envahissantes sont identifiables au bout de 4 à 5 jours, pour d'autres, au contraire, 8 à 10 jours sont nécessaires.

c) identification

A côté d'espèces banales, nous avons été confrontée à des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* peu communes. Nous avons eu recours, pour leur détermination, aux travaux de RAPER et FENNEL (1965), RAPER et THOM (1966), PITT (1973), SAMSON et al. (1976).

## 4 - Conditions de prélèvements sur les bouchons.

Le bouchage définit une face inférieure, au contact du vin, une supérieure au contact de l'air; il nous a donc paru important de bien connaître la répartition de la mycoflore sur les bouchons neufs, afin d'apprécier le rôle du bouchage sur son évolution.

Prenant donc, arbitrairement, le sens de lecture de la marque de la cave vinicole, nous avons défini des zones de prélèvement :

H : tiers supérieur
M : tiers médian
B : tiers inférieur
$S_B$ : surface de base

Dans ces zones, les semis sont effectués au niveau des lenticelles à raison de 2 semis par lenticelle et à partir de 4 ou 8 lenticelles sur chacun des deux milieux.

Source : MNHN, Paris

Au niveau de $S_B$, les lenticelles sont ouvertes sur toute leur longueur; les tissus y sont donc plus aérés mais la mycoflore y est moins protégée contre les aléas externes et notamment elle a pu subir les effets des bains désinfectants. Elle sera aussi directement au contact du vin.

Les prélèvements sont effectués, aseptiquement, au moyen d'une fine pointe métallique; les fragments ensemencés sont de quelques dizièmes de millimètre chacun afin de limiter l'inoculum et mieux individualiser les espèces. Malgré ces précautions, nous verrons qu'il est fréquent que plusieurs espèces, en mélange, soient identifiées à partir d'un semis. Dans la plupart des essais, ces prélèvements sont effectués à proximité de la lumière des lenticelles, ce qui permet de conserver le bouchon indemne pour les contrôles ultérieurs.

Cependant, pour nous assurer des possibilités de survie des divers éléments de la mycoflore en grande profondeur, vraisemblablement plus à l'abri des variations climatiques ambiantes, nous coupons aseptiquement en tranches certains bouchons, au centre des trois zones (H, M, B) et effectuons alors des isolements à partir des tissus les plus «à coeur» des lenticelles.

Les semis sont déposés par stries sur la gélose, dans le sens des aiguilles d'une montre, à raison de 8 par boîte de Pétri. Comme chaque strie reste repérable, elle sera recherchée lors du dépouillement des résultats pour ne tenir compte que des thalles qui y sont centrés. En effet, certaines espèces, telle le *P. frequentans*, très sporulantes, produisent rapidement de multiples thalles secondaires, ce qui les ferait surévaluer sans cette précaution.

## 5 - Prélèvement des bouchons sur les bouteilles.

L'ouverture des bouteilles s'effectue en air calme, à proximité d'une flamme. Chaque bouteille a le goulot et le dessus de bouchon généreusement trempés dans l'alcool à 95° puis flambés. Entre chaque opération, le tire-bouchon est lui-même flambé.

On évite de transpercer le bouchon et on le sort doucement pour que des remous d'air ne provoquent par une contamination indésirable lors du débouchage. D'ailleurs, ces risques sont réduits du fait que les ensemencements seront effectués à partir des tissus lenticellaires, donc non directement au contact de l'air.

On saisit le bouchon grâce à un papier filtre stérile sur lequel on le dépose pour effectuer aussitôt les ensemencements.

Pour les bouteilles, objet d'une dégustation d'expertise, il fut nécessaire de transporter les bouchons, après ouverture, avec le maximum de sécurité au laboratoire. A cet effet, nous avions préparé des sachets plastiques, individuels, soudés sur tous leurs côtés, et munis d'une étiquette destinée à porter les références de la bouteille. Chaque sachet est entrouvert très rapidement, avec des ciseaux flambés; le bouchon est introduit, $S_B$ vers le fond; le bord du sac est aussitôt replié et agrafé. Ces bouchons sont placés, dès que possible, en armoire frigorifique jusqu'à leur analyse.

Source : MNHN, Paris

## II - LES MOISISSURES DES BOUCHONS NEUFS

Dans un premier temps, nous avons demandé que soient choisies au hasard 10 balles dans un lot ayant provoqué des accidents et qu'à l'intérieur de chaque balle soient prélevés 100 bouchons qui nous furent envoyés en sacs numérotés.

Dès l'examen direct, nous avons été étonnée par la différence de couleurs qui existait entre les bouchons issus de balles différentes; les uns étaient «rosés», les autres «gris bleuté».

### 1 - Pollution globale des bouchons.

Le premier essai porte sur 5 bouchons (a - e) pris au hasard, pour chacune de ces balles (n° 1-10).

Le tableau 1 rend compte du nombre de thalles recensés au niveau des semis.

TABLEAU n° 1 - Nombre total de thalles identifiés aux semis (24 semis par bouchon, tous milieux et toutes zones confondus)

| référence de la balle | référence du bouchon | | | | | Total / 120 semis |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | a | b | c | d | e | |
| Balle 1 | 1 | 0 | 11 | 0 | 0 | 12 |
| Balle 2 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 7 |
| Balle 3 | 4 | 1 | 2 | 2 | 0 | 9 |
| Balle 4 | 27* | 22 | 29* | 23 | 24 | 125 |
| Balle 5 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 6 |
| Balle 6 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| Balle 7 | 16 | 3 | 28* | 31* | 23 | 101 |
| Balle 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 4 |
| Balle 9 | 24 | 24 | 23 | 23 | 28* | 122 |
| Balle 10 | 26* | 29* | 24 | 15 | 28* | 122 |

L'examen de ce tableau appelle les observations suivantes :

- certains bouchons peuvent être considérés comme indemnes de moisissures puisqu'il n'a pas été possible d'en mettre en évidence sur 24 semis!

Source : MNHN, Paris

- presque tous les bouchons, pris au hasard dans une balle, peuvent être pratiquement dans le même état, c'est le cas pour les balles 1, 2, 3, 5, 6, 8;

- dans une balle pratiquement saine, il arrive qu'un bouchon puisse être pollué au niveau de plusieurs lenticelles; ainsi, la balle 1, bouchon c; dans cet exemple, d'ailleurs, une seule espèce est trouvée, l'*Aspergillus conicus* Blochwitz;

- il existe, au contraire, des bouchons très fortement contaminés : tous les semis présentent au moins un thalle quand ce n'est pas plusieurs. Les résultats marqués * sont particulièrement significatifs à cet égard;

- d'une manière générale, un bouchon très contaminé appartient à une balle dont les autres bouchons sont essentiellement dans le même état, à de rares exceptions près (balle 7, b).

- tandis que les balles qui apparaissent saines (4 à 13 thalles pour 120 semis!) présentent des bouchons rosés, les balles 4, 7, 9, 10, très contaminées (101-125 thalles pour 120 semis) ont les bouchons gris bleuté. Est-ce une simple coïncidence ?

- indiquons que, dans cet essai, les balles 4, 7 et 10 présentent un assortiment d'espèces; la balle 9 voit les 4/5 des lenticelles de ses 5 bouchons occupées par une seule espèce, l'*A. conicus*.

## 2 - Répartition de la mycoflore selon les balles et les zones

Ce deuxième essai concerne 3 bouchons, à nouveau prélevés au hasard, dans 3 des balles reconnues saines : balles 1, 3, 8 et dans les balles reconnues contaminées : 4, 7, 9, 10.

Cet essai se situe 5 mois après le précédent; durant ce délai, les bouchons furent conservés dans l'ambiance chaude et sèche du laboratoire. Il avait pour but de vérifier les résultats précédents, en les affinant. Les résultats concernant les balles 1, 3, 8 sont identiques à ceux du 1er essai; le tableau 2 fournit, pour les 4 autres, la répartition des espèces et le nombre de thalles observés pour chacune, par zone et par bouchon.

L'étude de ce tableau appelle les conclusions suivantes :

- cet essai, bien que pratiqué sur un petit nombre de bouchons, et après séjour prolongé dans les conditions ambiantes de notre laboratoire, confirme les résultats précédents et prouve la longévité des espèces rencontrées;

- il n'apparaît aucun gradient de répartition des espèces sur le bouchon. On trouve sensiblement autant de thalles en H (76), M (66), B (78), $S_B$ (68). Remarquons que le nombre de thalles trouvés en $S_B$ tend à établir le peu d'efficacité du bain désinfectant.

- c'est encore la balle 7 qui montre de la disparité dans le niveau de contamination des différents bouchons; dans les autres, ils ont pratiquement toutes leurs lenticelles contaminées;

- quand une seule espèce est détectée sur un bouchon, nous constatons

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n°2 - Répartition des espèces de moisissures et nombre de thalles par espèce en fonction des zones du bouchon (8 semis par zone, soit 32 semis par bouchon)

| ref.balle | bouchon | zones | | | | total par bouchon /32 semis | total par balle /96 semis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | H | M | B | $S_B$ | | |
| Balle 4 | 1 | A. conicus (3)<br>P.frequentans (5)<br>-<br>-<br>- | A. conicus (4)<br>P. frequentans (1)<br>-<br>-<br>Trichoderma (1) | -<br>P.frequentans (5)<br>P. citrinum (1)<br>P.granulatum (2)<br>- | A.conicus (6)<br>P.frequentans (3)<br>-<br>P.granulatum (2)<br>- | 33 | |
| | 2 | A.conicus (4)<br>P.frequentans (4)<br>-<br>-<br>P.granulatum (3) | A.conicus (3)<br>P.frequentans (6)<br>-<br>-<br>P.granulatum (3) | -<br>P.frequentans (8)<br>P.spinulosum (1)<br>P.citrinum (1)<br>P.granulatum (3) | A.conicus (5)<br>P.frequentans (2)<br>-<br>-<br>P.granulatum (1) | 44 | |
| | 3 | -<br>P.frequentans (5)<br>P.spinulosum (1)<br>P.granulatum (3) | A.conicus (2)<br>P.frequentans (2)<br>-<br>P.granulatum (2) | -<br>P.frequentans (3)<br>P.spinulosum (5)<br>P.granulatum (1) | A.conicus (3)<br>P.frequentans (5)<br>-<br>P.granulatum (1) | 33 | 110 |
| Balle 7 | 1 | 0 | P.frequentans (3)<br>P.spinulosum (1)<br>P.purpurrescens(2)<br>-<br>P.citrinum (1)<br>- | P.frequentans (2)<br>P.spinulosum (1)<br>P.purpurrescens(1)<br>-<br>-<br>P.granulatum (1) | -<br>P.spinulosum (1)<br>-<br>P.citreo-viride(2)<br>-<br>P.granulatum (2) | 17 | |
| | 2 | -<br>-<br>P.citrinum (3) | P.frequentans (1)<br>-<br>- | -<br>P.spinulosum (1)<br>P.citranum (1) | 0 | 6 | |
| | 3 | A.conicus (2) | A.conicus (1) | A.conicus (1) | A.conicus (2) | 6 | 29 |
| Balle 9 | 1 | A.conicus (6)<br>-<br>P.citrinum (1) | A.conicus (6)<br>P.spinulosum (1)<br>- | A.conicus (5)<br>-<br>P.citrinum (1) | A.conicus (6)<br>-<br>- | 26 | |
| | 2 | A.conicus (5) | A.conicus (7) | A.conicus (6) | A.conicus (5) | 23 | |
| | 3 | A.conicus (7)<br>-<br>- | A.conicus (7)<br>-<br>P.granulatum (1) | A.conicus (7)<br>P.spinulosum (1)<br>- | A.conicus (6)<br>-<br>- | 29 | 73 |
| Balle 10 | 1 | A.conicus (6)<br>-<br>P.citrinum (1)<br>P.lilacinum (1) | A.conicus (7)<br>P.spinulosum (1)<br>-<br>- | A.conicus (8)<br>-<br>-<br>- | A.conicus (8)<br>-<br>-<br>- | 30 | |
| | 2 | A.conicus (7)<br>P.frequentans (1)<br>-<br>- | A.conicus (3)<br>-<br>P.citreo-viride(2)<br>P.lilacinum (1) | A.conicus (8)<br>-<br>-<br>- | A.conicus (7)<br>-<br>P.citreo-viride(1)<br>- | 30 | |
| | 3 | A.conicus (8) | A.conicus (5) | A.conicus (4) | A.conicus (4) | 21 | 81 |

qu'il s'agit de l'*A. conicus* (balle 7, n° 3; 9, n° 2; 10, n° 3). Cette espèce, dont nous évoquerons ultérieurement la biologie, n'est que très difficilement mise en évidence sur $M_2$ lev, milieu sur lequel elle pousse très lentement et y est par conséquent dominée si d'autres sont présentes; c'est presque uniquement sur $M_5S_5$ qu'il est possible de l'observer. Elle est pourtant fréquente puisque trouvée 186 fois alors qu'elle est, à coup sûr, sous-estimée.

- si le *P. frequentans* se situe comme le *Penicillium* le plus répandu, plusieurs autres espèces sont plus ou moins régulièrement rencontrées.

## 3 - Mycoflore installée au coeur des lenticelles.

Le troisième essai concerne l'étude de la flore profonde des lenticelles; pour cela, les bouchons sont tranchés, comme décrit aux techniques.

Il s'agit de bouchons choisis parmi ceux dont l'essai 2 a révélé la flore superficielle. Entre les deux essais, il s'est écoulé 3 mois durant lesquels les bouchons

Source : MNHN, Paris

furent conservés individuellement en sacs stériles, au laboratoire.

Les résultats figurent au tableau 3.

TABLEAU n° 3 - Fréquence des moisissures installées "au coeur" des lenticelles (16 semis par niveau)

| | | |
|---|---|---|
| Balle 1 | Bouchon n°1 | 0 |
| Balle 3 | 2 | 0 |
| Balle 8 | 2 | 0 |
| Balle 4 | 1 | P. frequentans +++ ; P. spinulosum + ; P.fellutamum +<br>Trichoderma +++ |
| | 2 | P. frequentans +++<br>Trichoderma +++ |
| | 3 | P. frequentans +++ ; P. adametzi ++ |
| Balle 7 | 1 | A. conicus ++<br>P. frequentans +++ ; P.spinulosum + ; P. citreo-viride +<br>Aureobasidium pullulans +++ |
| | 2 | P. frequentans + ; P. spinulosum +<br>Absidia + |
| | 3 | P. frequentans + ; P. brevi-compactum +<br>Trichoderma +++ |
| Balle 9 | 1 | P. frequentans + ; P. spinulosum ++ |
| | 2 | A. conicus +++<br>P. frequentans ++<br>Trichoderma ++ |
| | 3 | A. conicus ++ |
| Balle 10 | 1 | A. conicus +++<br>Trichoderma + |
| | 2 | A. conicus ++<br>P. frequentans +++ |

+++ espèces trouvées aux 3 niveaux H, M, B
++ " " à 2 niveaux
+ " " à 1 niveau.

Sont soulignées les espèces qui n'avaient pas été observées dans les semis effectués en surface.

La consultation du tableau 3 nous renseigne sur la fréquence relative de diverses moisissures aux trois niveaux que nous n'avons pas ici individualisé en raison de l'absence de gradient de répartition sur les bouchons neufs :

Source : MNHN, Paris

- si une partie des espèces signalées en surface n'est pas retrouvée, nous en observons de nouvelles. C'est le cas de trois espèces de *Penicillium*.

- plus significative nous apparaît la dominance générale du *Trichoderma viride*, espèce à très grand développement et dont la présence n'avait été relevée qu'en balle 4, bouchon 1, zone M. Les *Aureobasidium pullulans* et *Absidia corymbifera* sont aussi des espèces à croissance rapide mais adaptées à des milieux plus humides, ayant subi un échauffement, résistant mal à la sécheresse. Ces trois espèces sont donc ici en survie, très abritées au coeur des lenticelles, ce qui nous prouve que la répartition de l'humidité relative au sein du bouchon est hétérogène et qu'à tout moment cette flore pourra s'exprimer si intervient une modification légère de l'humidité relative du substrat.

## 4 - Évolution de la mycoflore après humidification.

Ce 4ème essai concerne des bouchons issus des balles précédentes. Dans l'ambiance du laboratoire, nous avons :

- placé des bouchons, en seaux de verre clos, à proximité d'un tampon d'ouate humide,

- fait tremper dans de l'eau bouillie, pendant 36 heures, d'autres bouchons avant leur mise en incubation en seaux de verre clos,

- d'autres, après même trempage, furent laissés à sécher à l'air libre.

Très rapidement, dans les deux premiers cas notamment, des efflorescences parcourent la surface du liège.

Des semis effectués 2 à 3 semaines plus tard mettent en évidence l'extension générale du *Trichoderma viride* suivi de l'*Aureobasidium pullulans*, notamment, pour ce dernier, lors du séchage à l'air libre. Diverses Mucorales (*Absidia, Mucor, Rhizopus, Syncephalastrum*) et un *Rhodotorula* sont aussi observés mais avec plus ou moins de fréquence selon le mode d'humidification et la balle concernée. Les thalles de ces envahisseurs couvrent rapidement les surfaces des boîtes de Pétri. Signalons que les espèces mises ainsi en évidence sont pour la plupart observées par LACEY (1973) dans l'atmosphère des usines de liège. Dans ces conditions d'expérience, il est difficile de mettre en culture les espèces antérieurement identifiées dans les balles, leur croissance lente ne les favorisant pas, sauf le *P. frequentans* qui lui-même prolifère et peut se développer malgré les envahisseurs.

Si nous comparons ces résultats à ceux de l'essai 3, nous constatons que les espèces plus hygrophiles, qui ici s'épanouissent, survivaient au coeur des lenticelles; l'humidification du substrat leur a permis cette reprise rapide de végétation.

Source : MNHN, Paris

## 5 - Corrélation entre l'aspect des emballages, la couleur des bouchons et la mycoflore installée.

Cet essai concerne des balles neuves que nous avons nous-même ouvertes, dans la coopérative vinicole où s'était produit un accident de «goûts de bouchon».

Il importait pour nous de savoir si nos observations précédentes se vérifieraient. Parmi toutes les balles litigieuses en stock, nous en avons retenu 5 présentant des bouchons «rosés» et 10 des bouchons «gris bleuté». Nous avons constaté l'homogénéité de la couleur des bouchons au sein d'une balle; dans chacune, nous avons prélevé une dizaine de bouchons; la mycoflore de trois d'entre eux fut étudiée :

- les balles contenant des «bouchons rosés» ont présenté respectivement: 0, 1, 2, 2 et 5 thalles pour 96 semis, soit 10 thalles pour 480 semis. Elles peuvent être considérées comme pratiquement indemnes;

- les balles contenant des «bouchons gris bleuté» ont présenté respectivement : 29, 35, 44, 44, 55, 66, 76, 80, 91, 106 thalles pour 96 semis, soit 626 thalles pour 960 semis.

Or, dans les conditions de conservation au laboratoire (tableau 2), nous faisons état de 29, 73, 81 et 110 thalles par balle pour 96 semis. Nous sommes donc dans les mêmes limites de variation.

L'ensemble des conclusions provisoires auxquelles l'examen des balles 1 à 10 (1er et 2ème essais) nous avaient amenée se trouvent ici confirmées.

TABLEAU n° 4 - Répartition et fréquence des espèces de moisissures des bouchons "gris bleuté" selon l'état de contamination des balles (32 semis par bouchon)

| Ref. de la balle | Bouchons n° | | | Ref. de la balle | Bouchons n° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 |
| 24 (29 thalles) | A.conicus (5)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>- | A.conicus (15)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>- | A.conicus (3)<br>-<br>P.spinulosum (1)<br>P.corylophilum(2)<br>P.brevi-compactum (1)<br>Paecilomyces(1) | 27 (35thalles) | A.conicus (10)<br>P.frequentans(1)<br>-<br>-<br>-<br>- | A.conicus (10)<br>P.frequentans(1)<br>-<br>P.corylophilum(1)<br>-<br>- | A.conicus(12)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>- |
| 14 (76thalles) | -<br>P.frequentans(26)<br>P.spinulosum(2)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>Trichoderma (1) | A.conicus (4)<br>P.frequentans(13)<br>P.spinulosum(6)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>Trichoderma (1) | A.conicus (12)<br>P.frequentans(4)<br>P.spinulosum(2)<br>P.citreo-viride(2)<br>P.citrinum (2)<br>P.corylophilum(2)<br>-<br>- | 13 (80thalles) | -<br>P.frequentans(23)<br>P.spinulosum(1)<br>P.citreo-viride(3)<br>-<br>-<br>-<br>- | A.conicus (1)<br>P.frequentans(23)<br>-<br>-<br>P.citrinum (4)<br>P.corylophilum(2)<br>P.granulatum(1)<br>- | A.conicus (11)<br>P.frequentans(6)<br>-<br>-<br>-<br>P.corylophilum(2)<br>-<br>Trichoderma(1) |
| G.A (91 thalles) | A.conicus (7)<br>P.frequentans(24)<br>P.spinulosum(1)<br>-<br>-<br>P.citrinum(2)<br>P.corylophilum(6)<br>-<br>- | A.conicus (6)<br>P.frequentans(29)<br>P.spinulosum(3)<br>-<br>-<br>P.citrinum(3)<br>-<br>P.granulatum(1)<br>- | -<br>P.frequentans(22)<br>P.spinulosum(3)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>-<br>- | 25 (106thalles) | A.conicus (6)<br>P.frequentans(22)<br>-<br>-<br>P.fellutanum (6)<br>-<br>P.corylophilum(2)<br>P.granulatum(2)<br>- | A.conicus (2)<br>P.frequentans(20)<br>P.spinulosum(3)<br>P.citreo-viride(2)<br>-<br>-<br>-<br>-<br>Acremonium (3) | A.conicus (7)<br>P.frequentans(5)<br>P.spinulosum(1)<br>-<br>-<br>P.corylophilum(1)<br>-<br>-<br>- |

Le tableau 4 compare la répartition et la fréquence des espèces rencontrées

Source : MNHN, Paris

sur les bouchons «gris bleuté» entre les deux balles les moins polluées et les quatre balles les plus polluées.

L'examen de ce tableau appelle les remarques suivantes :

- dans les balles les moins contaminées, l'*A. conicus* est encore seul ou normalement associé à un petit nombre d'espèces;

- lorsque le niveau de contamination est élevé, nous sommes en présence d'une flore variée où l'*A. conicus* tend à disparaître alors que divers *Penicillium* s'installent; le *P. frequentans* y est très bien représenté.

Ainsi se dégage la notion, pour ce substrat, d'espèce pionnière et l'existence d'un cortège d'espèces comme il en est connu par ailleurs sur d'autres substrats secs.

Enfin, peu de différences apparaissent entre les mycoflores des bouchons conservés plusieurs mois dans notre laboratoire et ceux qui le furent, dans leurs sacs d'origine, et dans les locaux secs, mais non chauffés, de la coopérative.

Signalons que la nature des emballages des balles, objet du litige, bien qu'issues de la même usine, était différente.

Alors que les bouchons «rosés» correspondaient à des balles dont le sac intérieur était en plastique perforé, les bouchons «gris bleuté» étaient régulièrement trouvés dans des balles dont le sac intérieur ne présentait pas de perforations.

Dans les deux cas, les sacs intérieurs sont repliés à leur partie supérieure, bords non soudés; mais tandis que dans le premier type d'emballage les échanges sont possibles tout autour et en partie haute, et qu'une circulation d'air peut s'établir, dans le second, seule existe l'ouverture en partie haute, sous l'épaisse couche de tissus de la couture du sac externe; la ventilation se fait mal.

En outre, chez plusieurs balles à bouchons «gris bleuté», le sac externe de plastique tissé présentait, au niveau de la couture et des «oreilles», des auréoles grisâtres d'où il fut possible d'isoler, après assez longue incubation, diverses espèces banales sur emballages humidifiés (*Botrytis, Alternaria, Stemphylium, Cladosporium*), ces espèces survivaient à l'état de propagules dormantes. Ceci tendrait à prouver qu'au cours du stockage ou du transport les balles ont subi transitoirement des conditions humides (fuite d'eau dans le local de transit, pluie ou fort brouillard au chargement ou déchargement. . .) ayant favorisé le développement de cette flore fugace; cette observation pourrait signifier que, parallèlement à cet évènement, a pu se produire une élévation d'hygrométrie à l'intérieur des sacs non perforés pour peu que se soit produite une saute de température, favorisant l'épanouissement momentané de la flore en survie dans les lenticelles des bouchons.

Mais cet évènement est antérieur à l'arrivée à la coopérative puisque les sacs furent entreposés, côte à côte, dans le même local.

L'existence de ces types d'emballages différents nous prouve que nous sommes en présence de plusieurs fabrications; nous savons d'ailleurs qu'il y a eu plusieurs livraisons étagées sur 6 mois. Il apparaît donc que les bouchons «rosés»

Source : MNHN, Paris

reconnus pratiquement stériles n'appartiennent pas à la même livraison et n'ont pas eu la même histoire que les bouchons «gris bleuté» dont une partie ou la totalité des lenticelles recèlent des moisissures. Il paraît peu vraisemblable que des bouchons si différents quant à leurs qualités microbiologiques se comportent de la même façon à l'égard des vins.

## 6 - Répartition des diverses espèces selon les balles; notion de fréquence.

Ayant examiné la mycoflore de bouchons issus de balles à sac intérieur perforé, nous y avons rencontré à plusieurs reprises, quoique toujours à l'état de traces: l'*A. conicus*, le *P. frequentans*, le *Trichoderma viride*. Rappelons cependant que la très grande majorité des semis est restée stérile.

Parallèlement, fut examinée la mycoflore d'un plus grand nombre de bouchons issus de balles à sac intérieur non perforé.

Quelques espèces, à elles seules, représentent la majorité des thalles recensés. C'est notamment le cas de l'*A. conicus* et du *P. frequentans*. Mais ces bouchons sont fabriqués depuis plusieurs années et nous savons que si certaines espèces des milieux secs sont très longévives, nous ne possédons pas d'information sur toutes. D'autre part, plus les espèces sont nombreuses sur un bouchon, plus elles voient se restreindre leur territoire; les chances de les isoler diminuent.

Il peut donc être intéressant de connaître la plus ou moins grande fréquence avec laquelle telle ou telle espèce est observée, même à l'état de traces, au travers des balles de l'ensemble du lot litigieux.

Ainsi, l'*Aspergillus conicus* a été retrouvé dans toutes les balles expérimentées, soit dans 100% des cas; puis en ordre décroissant :

*P. frequentans, P. spinulosum, P. corylophilum, Trichoderma viride*, sont retrouvés dans au moins 75% des cas;

*P. citrinum, P. citreo-viride, P. granulatum*, dans au moins 50%;

*P. purpurrescens, P. fellutanum, P. adametzi, P. brevi-compactum, P. purpurogenum, P. lilacinum* et *Paecilomyces variotii*, le sont dans moins de 25%.

Cependant, comme la plupart de ces moisissures possèdent un métabolisme original, il conviendra par la suite de ne négliger aucune d'elles dans la recherche des responsabilités; en effet, comme nous allons le voir, les accidents de «goûts de bouchon» ne concernent jamais qu'un nombre restreint de bouteilles dans un lot suspect.

Source : MNHN, Paris

# III - LES MOISISSURES DES BOUCHONS DANS LES LOTS ACCIDENTÉS

## 1 - Vins accidentés - 1ère série.

Cet essai concerne l'étude de la mycoflore des bouchons de 12 bouteilles, bouchées depuis 3 ans, et prélevées, au hasard, dans un lot litigieux (n° 142) et envoyées au laboratoire.

Les prélèvements des bouchons, puis les semis par zone, furent effectués comme il est décrit aux techniques.

Le tableau n° 5 établit la répartition des espèces et le nombre de thalles pour chacune, en fonction des zones du bouchon.

TABLEAU n° 5 - Vins accidentés - 1re série.
Répartition des espèces et nombre de thalles par espèce, en fonction des zones du bouchon (16 semis par bouchon et par zone, soit 64 semis par bouchon).

| Bouteille n° | Zones | | | |
|---|---|---|---|---|
| | H | M | B | $S_B$ |
| 1 | P.frequentans(7)<br>- | -<br>P.roqueforti (1) | 0 | 0 |
| 2 | 0 | P.frequentans(1) | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | A.conicus (1) | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | P.citrinum (6) | 0 | 0 | 0 |
| 7 | A.conicus (1) | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | P. roqueforti (1) |
| 9 | P.frequentans (6)<br>P.granulatum (2) | P.frequentans (1)<br>- | 0 | 0 |
| 10 | P.roqueforti (1) | 0 | 0 | 0 |
| 11 | P.spinulosum (1) | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| total des thalles de la flore d'origine | 22/192 semis | 2/192 semis | 0 | 0 |
| P.roqueforti | 1 | 1 | 0 | 1 |

Source : MNHN, Paris

Pour donner des chances maximales à la mycoflore de s'installer, il a été pratiqué 16 semis par zone, soit en tout 64 semis par bouchon.

La consultation de ce tableau appelle les remarques suivantes :

- les espèces originellement trouvées à diverses reprises sur bouchons neufs, ne sont qu'accidentellement présentes; en tout 24 thalles pour 768 semis! soit dans . . . 3% des cas. Nous sommes loin des exemples où il y avait autant, voire plus de thalles que de semis.

- existence d'un gradient de répartition de ces espèces puisque, sur les 24 thalles, 22, en 5 espèces différentes, le sont dans la zone H;

- enfin, détection d'une espèce jusque là non observée : le *Penicillium roqueforti*.

## 2 - Vins accidentés - 2ème série.

Les bouteilles objet des analyses sont prélevées au sein de 3 lots litigieux; elles sont parallèlement soumises, pour appréciation des odeurs et saveurs, à cinq dégustateurs professionnels.

Les lots 143, 142, 114 correspondent chacun à une cuve; les bouteilles de ces lots sont groupées par caisses-palettes de 616 bouteilles, ce qui représente par exemple 26 caisses pour le lot 143.

Toutes les bouteilles d'une caisse ont été rangées ainsi dès le bouchage et n'ont plus été déplacées. Par contre, ces lots, non mis en vente par la coopérative après les réclamations de la clientèle et les premiers retours, ont été déplacés; il s'ensuit que l'ordre dans lequel les caisses sont rangées dans le local n'est plus celui où elles le furent lors du bouchage.

Sachant qu'il y a 10000 bouchons par balle, ce qui représente plus de 16 caisses, il y a beaucoup de chances que toutes les bouteilles d'une caisse-palette soient obturées avec les bouchons issus d'une seule balle (sauf changement de balle en cours de caisse). Si donc il y a un lien entre l'accident présumé et l'état sanitaire des bouchons - compte tenu des résultats acquis au laboratoire - il devrait se dégager une certaine homogénéité au sein d'une caisse et une grande hétérogénéité d'une caisse à l'autre puisque celles-ci ont été déplacées et, n'ayant plus les rapports de voisinage de l'origine, leurs bouchons peuvent appartenir à des balles différentes.

Nous avons affecté d'une lettre chacune des caisses appartenant aux trois lots concernés; comme elles sont empilées par trois, il paraissait prudent d'effectuer des prélèvements aux trois niveaux afin d'éliminer les risques de gradient d'humidité ou de température qui auraient pu favoriser le développement de microorganismes indésirables à un niveau particulier de leur stockage.

Pour toutes ces raisons, nous avons décidé de faire prélever trois bouteilles voisines par caisse et de pratiquer les prélèvements une caisse sur deux; ainsi disposons-nous de bouteilles stockées à tous les niveaux mais ayant, par groupe de 3, des chances d'être issues d'une même balle.

Source : MNHN, Paris

Nous ne pouvons ici entrer dans les détails techniques de la dégustation; chaque dégustateur disposait de quatre appréciations possibles (0 à 3) pour définir l'intensité des défauts (odeur et saveur) attachés aux goûts de bouchon. Nous avons pu ainsi, pour chacune des bouteilles examinées (59 en tout), obtenir une cotation moyenne à partir de classes que nous avons définies comme suit :

0 à 5 points = 0
6 à 10 points = x
11 à 15 points = xx
à partir de 16 points = xxx

TABLEAU n° 6 - Dégustation de vins issus de lots à "goûts de bouchon" . Moyenne pondérée des appréciations de cinq dégustateurs .

| Lot | bouteille | Total des points dégustateurs | appréciation moyenne | Lot | bouteille | Total des points dégustateurs | appréciation moyenne |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 143 | A1 | 3 | 0 | 143 | U1 | 7 | x |
| | A2 | 14 | xx | | U2 | 14 | xx |
| | A3 | 15 | xx | | U3 | 9 | x |
| 143 | C1 | 7 | x | 143 | V1 | 2 | 0 |
| | C2 | 3 | 0 | | V2 | 3 | 0 |
| | C3 | 5 | 0 | | V3 | 9 | x |
| 143 | E1 | 15 | xx | 142 | B1 | 6 | x |
| | E2 | 14 | xx | | B2 | 4 | 0 |
| | E3 | 8 | xx | | B3 | 1 | 0 |
| 143 | G1 | 14 | xx | 142 | D1 | 25 | xxx |
| | G2 | 18 | xxx | | D2 | 11 | xx |
| | G3 | 9 | x | | D3 | 14 | xx |
| 143 | I1 | 8 | x | 142 | F1 | 4 | 0 |
| | I2 | 4 | 0 | | F2 | 6 | x |
| | I3 | 9 | x | | F3 | 13 | xx |
| 143 | K1 | 14 | xx | 142 | H1 | 23 | xxx |
| | K2 | 8 | x | | H2 | 9 | x |
| | K3 | 9 | x | | H3 | 13 | xx |
| 143 | M1 | 4 | 0 | 142 | J1 | 3 | 0 |
| | M2 | 4 | 0 | | J2 | 3 | 0 |
| | M3 | 3 | 0 | | J3 | 2 | 0 |
| 143 | O1 | 16 | xxx | 114 | A1 | 2 | 0 |
| | O2 | 12 | xx | | A2 | 18 | xxx |
| | O3 | 16 | xxx | | A3 | 0 | 0 |
| 143 | Q1 | 5 | 0 | 114 | B1 | 19 | xxx |
| | Q2 | 6 | x | | B2 | 5 | 0 |
| | Q3 | 18 | xxx | | | | |
| 143 | T1 | 7 | x | R 114 | 7 | 3 | 0 |
| | T2 | 11 | xx | | 8 | 1 | 0 |
| | T3 | 8 | x | | 9 | 3 | 0 |

Le tableau n° 6 fournit la cotation moyenne concernant la dégustation de chaque bouteille.

Source : MNHN, Paris

L'observation critique de ce tableau entraîne plusieurs remarques :

- aucun des dégustateurs ne savait que les bouteilles avaient été l'objet d'un choix; ils ne pouvaient donc aucunement être influencés dans leur travail. Or, nous pouvons constater une répartition non au hasard des bouteilles qui sont, au contraire, dans la majorité des cas, regroupées par 3. Pour illustrer cette observation, les séries 143 : C1, C2, C3; I1, I2, I3; M1, M2, M3; V1, V2, V3; 142 : B1, B2, B3; J1, J2, J3; R 114 : 7, 8, 9 sont indemnes ou presque; de même existent des séries où toutes les bouteilles sont accidentées : 143 : E1, E2, E3; G1, G2, G3; O1, O2, O3; 142 : D1, D2, D3; H1, H2, H3, . . .

Ceci confirme l'hypothèse selon laquelle, si un lien existait entre l'état sanitaire de certains bouchons et les accidents reconnus sur ces vins, nous devions retrouver des séries.

- Bien sûr, les bouteilles 143 : Q1, Q2, Q3, 114 : A1, A2, A3, B1, B2, semblent en contradiction, mais nous savons que même au sein de certaines balles, essentiellement peu polluées, existent des bouchons plus contaminés, où telle ou telle espèce a pris plus d'extension; d'autre part, on ne peut exclure le changement de balle au cours du bouchage d'une palette pas plus que le déplacement inopiné d'une bouteille superficielle d'une caisse-palette à une autre au cours du stockage.

- Si, par ailleurs, nous comparons entre elles les caisses au sol : 143 : A, G, M, V; 142 : D, J ou les caisses sous plafond : 143 : C, I, O, U, 142 : F, nous constatons que dans les deux cas il y a des caisses indemnes et d'autres accidentées; nous pouvons conclure à l'absence d'influence de la position de la caisse dans le local considéré.

Les bouchons issus de ces bouteilles, conditionnés comme décrit aux techniques, furent, pour un certain nombre d'entre eux, l'objet d'isolements par zones.

Les tableaux n° 7 et n° 8 permettent la comparaison entre la mycoflore de 14 bouchons issus de bouteilles reconnues sans goût anormal et de 14 cotées xx et xxx (à «goûts de bouchons» caractérisés).

Les résultats d'analyses exprimés aux tableaux n° 7 et n° 8 appellent les commentaires suivants :

- les bouteilles cotées xx et xxx ont permis la culture de :
36 thalles . . . . en 7 espèces différentes; *A. conicus* (7), *P. frequentans* (10), *P. spinulosum* (9) étant les mieux représentées; il n'a pas été trouvé de *P. roqueforti*.

- les bouteilles cotées 0 ont révélé :
24 thalles . . . . en 2 espèces : *A. conicus* (19) et *P. frequentans* (5). En outre, le *P. roqueforti* a été trouvé 14 fois bien que les bouteilles des deux catégories soient stockées côte à côte et qu'elles ne présentent, ni les unes ni les autres, de capsules métalliques de surbouchage dont nous verrons qu'elles semblent favorables à l'extension de cette espèce.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 7 - Vins accidentés - 2e série .
Répartition des espèces et nombre de thalles par espèce , en fonction des zones , sur les bouchons de 14 bouteilles reconnues normales.
(64 semis par bouchon)

| Bouteille | appréciation moyenne | Zone du bouchon | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | H | M | B | $S_B$ |
| 143 $A_1$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 143 $C_2$ | 0 | - R(1) | P.frequentans(1) R(3) | - R(2) | 0 |
| $C_3$ | 0 | 0 | 0 | P.frequentans(1) | 0 |
| 143 $I_2$ | 0 | 0 | A.conicus (1) | 0 | 0 |
| 143 $M_1$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $M_2$ | 0 | A.conicus (7) | 0 | 0 | 0 |
| $M_3$ | 0 | A.conicus (4) | A.conicus (4) | 0 | 0 |
| 143 $V_1$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $V_2$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 142 $B_2$ | 0 | 0 | 0 | P.frequentans(1) | 0 |
| $B_3$ | 0 | R(1) | 0 | 0 | 0 |
| 142 $J_1$ | 0 | R(5) | 0 | 0 | 0 |
| $J_3$ | 0 | A.conicus(3) P.frequentans(2) | - - R(2) | 0 | 0 |
| 114 $B_2$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

R(x) indique le nombre de thalles de Penicillium roqueforti rencontrés.

- bien que certains bouchons xxx soient stériles, nous ne pouvons ignorer la variété des espèces présentes. . . à l'état de vestige, dans l'ensemble des vins reconnus accidentés. Elles appartiennent à la flore des bouchons neufs mais n'auraient pu être mises en évidence sans un nombre important de semis. Ceci nous renseigne donc sur la richesse des cortèges établis antérieurement au bouchage.

- d'autre part, l'*A. conicus*, espèce pionnière, souvent isolée seule dans certains lots de bouchons neufs, paraît plus fréquente dans les bouchons de

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 8 - Vins accidentés - 2e série .
Répartition des espèces et nombre de thalles par espèce , en fonction des zones , sur les bouchons de 14 bouteilles présentant des " goûts de bouchon " caractérisés. (64 semis par bouchon)

| Bouteille | appréciation moyenne | Zone du bouchon | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | H | M | B | $S_B$ |
| 143 $A_2$ | xx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $A_3$ | xx | 0 | 0 | P.spinulosum(1) | 0 |
| 143 $E_1$ | xx | A.conicus (1)<br>P.frequentans(3)<br>P.spinulosum(2) | 0 | 0 | 0 |
| $E_2$ | xx | A.glaucus(1) | 0 | 0 | 0 |
| 143 $G_2$ | xxx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 143 $K_1$ | xxx | A.conicus (1)<br>P.frequentans(2)<br>P.spinulosum(2)<br>- | A. conicus (1)<br>-<br>-<br>P.fellutanum (1) | 0 | 0 |
| 143 $Q_3$ | xxx | A.conicus (1)<br>P.frequentans(4)<br>P.spinulosum (1)<br>Paecilomyces(1) | 0 | 0 | 0 |
| 142 $D_1$ | xxx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $D_2$ | xx | A.conicus(3)<br>P.frequentans(1)<br>P.spinulosum(3) | 0 | 0 | 0 |
| $D_3$ | xx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 142 $H_1$ | xxx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $H_3$ | xx | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 114 $A_2$ | xxx | P.frequentans(4)<br>P.spinulosum(1)<br>P.fellutanum (1) | 0 | 0 | 0 |
| 114 $B_1$ | xxx | P.corylophilum(1) | 0 | 0 | 0 |

bouteilles indemnes;

- précisons que, pour plusieurs de ces bouchons, nous avons, en outre, effectué des prélèvements au coeur des lenticelles (à raison de 48 semis par bouchon) et que la très grande majorité d'entre eux reste stérile . . . donc les espèces originelles du liège ne peuvent non plus survivre dans les tissus lenticellaires profonds;

- ces observations posent le problème du devenir de la flore d'origine en présence du vin, ce qui est l'objet des essais suivants.

Source : MNHN, Paris

# VI - LE DEVENIR DE LA MYCOFLORE DES BOUCHONS EN PRÉSENCE DU VIN

## 1 - Évolution de la mycoflore préétablie, après bouchage.

Sans justifier de la motivation de notre choix, nous avons demandé que soient bouchées quelques bouteilles de vin récent avec des bouchons issus respectivement des balles 1, 3, 8; 4, 7, 9, 10, qu'elles soient repérées puis conditionnées comme pour l'expédition à la clientèle, donc avec capsule métallique de surbouchage, pour tenter de reconstituer les conditions les plus courantes.

TABLEAU n° 9 - Mycoflore des bouchons issus de balles connues après 3 mois de bouchage. Répartition des espèces et nombre de thalles par espèce en fonction des zones du bouchon.

| Ref. Balle | bouchon n° | Zones | | | | moisissures originelles /64 semis | P.roqueforti |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | H | M | B | $S_B$ | | |
| 1 | $S_1$ | 0 R(2) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | $S_2$ | 0 R(1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | $S_3$ | 0 R(10) | 0 R(1) | 0 | 0 | 0 | 11 |
| 3 | $S_1$ | 0 R(1) | 0 R(2) | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | $S_2$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | $S_3$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | $S_1$ | 0 R(5) | 0 R(13) | 0 R(2) | 0 R(2) | 0 | 22 |
| | $S_2$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | $S_3$ | 0 R(8) | 0 R(9) | 0 R(3) | 0 | 0 | 20 |
| Total | | 0/144 semis | 0/144 semis | 0/144 semis | 0/144 semis | | |
| 4 | $S_1$ | A. conicus (1) R(7) | 0 R(1) | 0 | 0 | 1 | 8 |
| | $S_2$ | P.granulatum (6) | 0 R(2) | 0 R(1) | 0 | 6 | 3 |
| | $S_3$ | A.conicus (5) P.frequentans (3) R(1) | - P.frequentans (2) | - P.frequentans (1) | 0 | 11 | 1 |
| 7 | $S_1$ | A.conicus (4) - | A.conicus (2) - R(2) | - P.granulatum (2) R(1) | 0 | 8 | 3 |
| | $S_2$ | P.frequentans(5) P.purpurescens(4) P.citrinum (2) P.granulatum (3) | P.frequentans (2) | 0 | 0 | 16 | 0 |
| | $S_3$ | 0 R(2) | 0 R(1) | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 9 | $S_1$ | 0 R(12) | 0 R(8) | 0 | 0 | 0 | 20 |
| | $S_2$ | A.conicus (3) P.granulatum (1) R(5) | 0 R(2) | 0 | 0 | 4 | 9 |
| | $S_3$ | 0 | 0 R(1) | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 10 | $S_1$ | P.frequentans(5) R(7) | 0 | 0 | 0 | 5 | 7 |
| | $S_2$ | A.conicus (6) - R(1) | A.conicus (5) P.frequentans (1) R(6) | 0 R(2) | 0 R(6) | 12 | 17 |
| | $S_3$ | A.conicus (2) P.frequentans (2) | - P.frequentans (7) R(7) | 0 | 0 | 11 | 7 |

R(x) indique le nombre de thalles de Penicillium roqueforti rencontrés.

Source : MNHN, Paris

Après un séjour en cave, elles nous furent expédiées, au bout d'environ 3 mois.

Le tableau n° 9 rapporte nos résultats d'analyse.

Son examen appelle les observations suivantes :

- le gradient de répartition des espèces, déjà observé sur les bouteilles litigieuses, est établi rapidement;

- les bouchons appartenant aux balles reconnues saines ne présentent pas de moisissures de la flore originelle;

- par contre, dans des balles très contaminées, certains bouchons sont indemnes des espèces d'origine, malgré le grand nombre de prélèvements (64) effectués par bouchon. C'est notamment le cas pour les bouchons 7 $S_3$, 9 $S_1$, 9 $S_3$. Or, nous avions trouvé des bouchons dont tous les semis étaient restés stériles, alors que les bouteilles avaient été cotées xx et xxx lors de la dégustation.

- dans les balles 4, 7, 9, 10, il est possible de retrouver 5 espèces mais toujours à l'état de traces, ce qui, en l'absence d'observations antérieures concernant leur installation, rendrait difficile la compréhension de cette diversité;

- non seulement la présence du *P. roqueforti* est confirmée, après bouchage, mais il est ici abondant, comme si l'ambiance humide et alcoolisée que réalisait la capsule métallique de surbouchage avait favorisé son développement. En effet, plusieurs bouchons avaient leur surface envahie par cette moisissure;

- le *P. roqueforti* semble capable de pénétrer profondément dans le bouchon et d'autant plus apte à s'installer que le bouchon était présumé sain lors du bouchage. Paradoxalement donc, il est d'autant plus aisé, sur bouchon après usage, d'isoler cette «moisissure verte» que le bouchon était propre au départ et les risques sont grands d'obtenir des boîtes de Pétri stériles à partir de bouchons dont nous savions, au départ, qu'ils étaient très contaminés. L'un ou plusieurs des éléments antérieurement établis ont rendu difficile l'installation de ce nouvel arrivant vraisemblablement, comme nous le verrons bientôt, par la libération dans le substrat de métabolites toxiques.

Le tableau n° 10 établit la comparaison entre le nombre total de thalles identifiés sur 3 bouchons neufs et 3 autres, issus de la même balle, après 3 mois de bouchage.

Que l'on compare, dans ce tableau, les totaux horizontalement ou verticalement, ils sont particulièrement significatifs :

- ils révèlent l'effondrement rapide des niveaux de pollution. En effet, les balles retenues présentaient un taux élevé de contamination réparti d'une façon homogène dans toutes les zones des bouchons. . . Or, nous ne retrouvons plus que 8% de la flore de départ dans la balle n° 4 et moins de 3% dans la balle n° 9;

- dès lors, la probabilité de retrouver vivante telle ou telle espèce de la mycoflore originelle ne relève plus que d'un jeu de hasard. La topographie des lenticelles, plus ou moins protégées, risque de justifier cette survie;

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 10 - Comparaison entre le nombre de thalles identifiés sur 3 bouchons neufs et 3 bouchons issus d'une même balle contaminée, après 3 mois de bouchage.

| Ref. Balle | Bouchons neufs | | | | Total /192semis |
|---|---|---|---|---|---|
| | Zone | | | | |
| | H | M | B | $S_B$ | |
| 4 | 56 | 48 | 60 | 56 | 220 |
| 7 | 10 | 18 | 16 | 14 | 58 |
| 9 | 38 | 44 | 40 | 34 | 146 |
| 10 | 48 | 38 | 40 | 40 | 162 |
| Total /192 semis | 152 | 148 | 156 | 144 | |

| Ref. Balle | Bouchons usagés | | | | Total /192semis |
|---|---|---|---|---|---|
| | Zone | | | | |
| | H | M | B | $S_B$ | |
| 4 | 15 | 2 | 1 | 0 | 18 |
| 7 | 18 | 4 | 2 | 0 | 24 |
| 9 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| 10 | 15 | 13 | 0 | 0 | 28 |
| Total /192semis | 52 | 19 | 3 | 0 | |

- puisque les bouchons de même origine, conservés parallèlement au laboratoire, gardent un taux de pollution élevé, il devient évident que les moisissures concernées sont sensibles soit à l'anaérobiose soit au vin.

Source : MNHN, Paris

## 2 - Étude du comportement de quelques espèces après une immersion prolongée.

Nous désirions individualiser l'action possible, sur plusieurs des espèces rencontrées, de l'existence :

- d'une phase liquide (en général mal supportée par une espèce xérophile),
- d'une anaérobiose partielle (non favorable à bien des espèces de moisissures aérobies strictes),
- d'une phase alcoolique relativement concentrée (le trempage prolongé en solution alcoolique se révélant néfaste à divers champignons).

En effet, ces trois conditions interviennent conjointement lors du bouchage.

Nous avons retenu 4 espèces :
l'*A. conicus*, espèce xérophile stricte, très fréquente dans les lenticelles;
le *P. frequentans*, endémique du liège;
le *P. granulatum*, plus rare, mais identifié régulièrement dans certains lots et communément signalé par LACEY (1973);
et le *P. roqueforti* : le nouveau venu après bouchage.

Ces moisissures ont été ensemencées en tubes gélosés, respectivement, sur les milieux nutritifs reconnus comme les plus favorables pour chacune. Les tubes furent mis à incuber jusqu'à ce que les thalles soient abondamment sporulés. Un tiers des tubes ainsi préparés servent de témoin; dans les autres, on procède (délicatement pour éviter la mise en suspension des spores) à l'immersion soit avec le l'eau stérile, soit avec du vin de même origine que dans l'essai précédent. Une seule bouteille de vin a servi à cet usage. Les tubes sont alors conservés, au repos, dans l'ambiance du laboratoire.

Régulièrement, on procèdera à deux types de contrôles :

1) aptitude à la germination des spores et mesure de la vitesse de croissance des tubes germinatifs,
2) aptitude à la survie des semis massifs : fragments de mycélium sporulé.

A cet effet, les tubes retenus sont délicatement égouttés avant de réaliser l'une ou l'autre technique.

La technique (1), très sensible, fournit parallèlement plusieurs critères d'appréciation. Il convient de réaliser une suspension homogène de spores dans une solution nutritive liquide ($M_2$ lev ou $M_5S_5$), de disposer celle-ci, en conditions aseptiques, sur lames et de mettre ces lames en incubation un nombre d'heures fonction de l'espèce considérée. Pour chaque espèce, des essais préliminaires ont défini les conditions les plus favorables à la germination des spores issues de tubes témoins.

Le tableau n° 11 fournit les résultats obtenus après une immersion de 18 jours qui nous a parue très significative. Pour chaque espèce sont indiquées:

- le temps moyen favorisant l'optimum de germination du témoin (de 11 à 30 heures),

Source : MNHN, Paris

TABLEAU n° 11 - Germination des spores de quelques moisissures des bouchons, en solution nutritive, après 18 jours d'immersion des thalles sporulés.

| Durées d'incubation | A.conicus | | P.frequentans | | P.granulatum | | P.roqueforti | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 30 h. | | 11 h. | | 22 h. | | 17 h. | |
| | a | b | a | b | a | b | a | b |
| Témoin | 40 % | 20 µm | 99 % | ⩾ 100 µm | 90 % | ⩾ 100 µm | 6 % | 30 µm |
| Eau | 0 % | - | 99 % | ⩾ 100 µm | 90 % | ⩾ 100 µm | 40 % | 50 µm |
| Vin | 0% | - | 3 % | 50 µm | < 1 % | 20 µm | 20 % | 80 µm |

a : % de spores germées
b : longueur moyenne des tubes germinatifs

- le pourcentage de germination (sur au moins 3 x 100 spores) dans ces conditions et la longueur moyenne (sur 50 spores) des tubes germinatifs.

Il est aisé de comparer entre elles ces données; elles appellent les commentaires suivants :

- l'*A. conicus*, espèce xérophile, à croissance naturellement très lente, n'aime pas la phase liquide de la solution nutritive où les spores du témoin lui-même ne sont germées qu'à 40% après 30 heures et les tubes germinatifs sont courts.

L'immersion prolongée du thalle sporulé a, dans nos conditions d'expérience, bloqué toute germination des spores!

- le *P. frequentans* a un pouvoir germinatif très élevé : délai court (11 h), taux de 99%, tubes germinatifs généralement supérieurs à 100µm, ce qui rend leur mensuration difficile. Il supporte, sans problème, l'immersion sous l'eau, donc il est peu sensible, pour sa survie, à l'anaérobiose. Mais en présence de vin, il n'y a plus que 3% de spores qui germent (réduction de 97%) avec une vitesse de croissance des tubes germinatifs réduite de moitié quoiqu'encore importante.

Donc, beaucoup de spores sont tuées et les survivantes freinées dès le 18ème jour;

- Pour le *P. granulatum*, le modèle présenté est très comparable à celui du *P. frequentans* mais il n'y a plus désormais qu'un très faible pourcentage de spores en état de germer;

- Le cas du *P. roqueforti* est, au contraire, très étonnant : l'anaérobiose momentanée des spores, avant leur mise en germination, paraît un facteur stimulant tant au point de vue pourcentage que vitesse de croissance. Les tubes

Source : MNHN, Paris

germinatifs poussent presque 3 fois plus vite après leur passage dans le vin. Ainsi, cette espèce est à la fois stimulée par l'anaérobiose partielle et le vin. Son installation inattendue sur les bouchons est donc parfaitement justifiée.

Les semis massifs (spores + mycélium) - technique (2) - ont aussi été effectués régulièrement. Nous signalerons, qu'après 2 mois d'immersion dans le vin, il n'est plus possible de faire pousser l'*A. conicus*, le *P. granulatum*; si le *P. frequentans* peut encore se développer à partir de quelques semis, par contre le *P. roqueforti* n'a rien perdu de sa vigueur.

Ces résultats expérimentaux permettent de conclure :

- à l'action stimulante du vin pour le *P. roqueforti*, espèce que nous avons vu s'installer après bouchage;
- à une action toxique, très rapide, du vin sur la mycoflore originelle.

Ils confirment aussi en tous points les conclusions auxquelles l'examen de bouchons prélevés sur bouteilles nous avaient amenée (gradient de répartition, probabilité réduite de survie de la plupart des espèces originelles).

## 3 - La mycoflore des parois dans les caves.

Il était, en effet, intéressant de connaître l'origine des contaminations par le *P. roqueforti* trouvé uniquement après bouchage.

Nous devons, dans le cas présent, signaler le haut niveau de propreté de l'ensemble des chais dans lesquels était survenu l'accident de «goûts de bouchons» ici étudié. Les surfaces, en majorité carrelées ou repeintes régulièrement, laissent peu de prise à l'installation de substrats favorisant la pullulation de moisissures normalement si abondantes dans les Industries alimentaires.

Il nous a été cependant possible de trouver quelques développements fongiques, notamment :

- sur un mur représentant la face froide des cuves isothermes;
- de même, au niveau de condensations, sur le plafond d'un sous-sol.

Les grattages effectués à ces niveaux ont permis d'identifier : du *Fusarium solani* (espèce endémique des eaux résiduaires), du *Rhacodium cellare* (banal sur les murs des caves à vins), de l'*Aspergillus versicolor*; mais le plus largement répandu dans nos semis était : le *P. roqueforti*.

Nous avons en outre trouvé cette espèce, formant un revêtement épais, sur le robinet d'une cuve à vin qui fuyait légèrement.

Ayant effectué des prélèvements dans une autre cave, de la même région, nous avons aussi fidèlement retrouvé cette espèce.

Ces résultats nous permettent de conclure :

- à la présence fidèle du *P. roqueforti* dans les caves, surtout là où des suintements de vin peuvent se produire; mais nous savons que ce substrat lui est favorable;

Source : MNHN, Paris

- lui sont associées diverses espèces dont la présence n'est pas inattendue dans de tels lieux : mais les espèces identifiées sur bouchons ne sont pas, dans ce cas, installées sur les parois des caves.

## 4 - Hypothèses sur le rôle éventuel des moisissures, les plus fréquemment rencontrées, dans l'apparition des «goûts de bouchons».

A la lumière des résultats précédemment exposés, nous allons discuter des rôles possibles respectifs de l'*A. conicus*, du *P. frequentans* et du *P. roqueforti*, toutes trois «moisissures vertes», que nous avons communément rencontrées sur les bouchons:

- l'*A. conicus* ne nous paraît pas devoir être directement responsable des goûts puisqu'on le trouve bien représenté dans les bouchons de bouteilles cotées 0 (sans odeur et saveur anormales); par contre, nous le pensons responsable de la couleur «gris bleuté» des bouchons que nous avions remarquée dès l'observation des premières balles. En effet, il est très largement répandu dans les lenticelles; or ce champignon présente au revers de culture un pigment d'un vert émeraude très intense qui pourrait bien diffuser dans le liège. Mais c'est une espèce pionnière dont l'intervention sur le substrat «liège» rendrait plus aisée l'installation des suivantes.

- Le *P. frequentans* est très régulièrement rencontré sur le liège. S'il est (cf. LACEY, 1973) incontestablement responsable de la subérose des ouvriers du liège, nous ne pensons pas qu'il soit directement en cause dans l'origine des goûts de bouchon car les accidents survenant sur des vins seraient beaucoup plus fréquents . . . Ils auraient donc été détectés. En effet, c'est sans doute, avec le *P. roqueforti*, la «moisissure verte» des bouchons qui pousse le plus facilement et rapidement en culture; elle est, en outre, aisément identifiable. D'ailleurs, dans les bouchons 143 C2 et C3, 143 B2, correspondant à des bouteilles cotées 0, il est retrouvé assez profondément. Nous croyons, au contraire, que sa responsabilité réside en ce qu'il doit vraisemblablement favoriser l'implantation d'autres espèces.

- Quant au *P. roqueforti*, il n'existe jamais dans les lenticelles de bouchons neufs. C'est un habitué des caves à vin et il colonise le bouchon d'autant mieux que ce dernier était apparemment indemne de moisissures pré-installées. Comme nous savons que, très vite après bouchage, elles sont tuées, il ne peut s'agir d'une concurrence directe entre les thalles des différents organismes. Ceci nous prouve, au contraire, que le *P. roqueforti* est sensible à certains des dérivés métaboliques qu'ont laissés, après leur disparition, l'une ou plusieurs des espèces originelles. Nous avons vu qu'il est favorisé par la pose de capsules métalliques de surbouchage et pouvait traverser le bouchon dans des bouteilles cotées 0.

Comme le *P. roqueforti* est très aisément visible pour tous et que - d'expérience - les professionnels savent que «bouchons moisis en surface» n'est pas forcément associé à «mauvais goût», il est aisé d'en conclure que, confondant toutes les espèces de «moisissures vertes» en une seule, tant d'erreurs aient

Source : MNHN, Paris

été commises. Nous le croyons, quant à nous, hors de cause dans ce type d'accidents.

- N'oublions pas cependant que bien d'autres champignons ont été recensés sur bouchons; le chapitre suivant traitera de certains aspects de leur biologie.

## V – SPÉCIALISATION DE LA MYCOFLORE DU LIEGE. PRINCIPAUX RÉSULTATS DU MÉTABOLISME DES MOISISSURES CONCERNÉES

Nous savons que certaines balles possèdent des bouchons pratiquement stériles alors que d'autres révèlent la présence d'une flore variée de moisissures, *Penicillium* notamment.

D'autre part, bien que le vin fasse rapidement disparaître ces espèces, il en reste des vestiges qui permettent de présumer de la plus ou moins grande richesse du cortège installé avant bouchage. Pour diverses raisons évoquées plus haut, il paraît difficile d'accuser les espèces les plus fréquentes et de négliger les moins souvent recensées.

Il suffit, en effet, de se reporter au tableau n° 8 pour constater que le *P. spinulosum* est régulièrement trouvé dans les bouchons de bouteilles cotées xx et xxx mais que si le *P. corylophilum* n'est qu'une fois retrouvé (en raison peut-être d'une plus grande sensibilité au vin), le *P. fellutanum* est à deux reprises retrouvé associé à un vin coté xxx et le *Paecilomyces* une fois! Comparés à la fréquence relativement faible où ces espèces sont identifiables dans les balles neuves (chapitre II, 6) ces résultats, bien que surprenants, ne sont vraisemblablement pas le fait du hasard.

Comme il existe très peu de renseignements précis concernant la mycoflore des lièges - à l'exclusion du travail de LACEY (1973) dont les motivations étaient différentes - il nous a paru utile de rechercher ce qui, dans les modes de vie, les élaborations de substances variées (acides organiques, antibiotiques, mycotoxines, etc.) connus par ailleurs concernant ces espèces, était susceptible de justifier leur présence sur le liège et leur responsabilité éventuelle dans des accidents de vins.

Pour comprendre les motivations de nos choix, il conviendra de se rappeler la composition chimique des différents constituants du liège, pour la plupart peu favorables, à partir desquels cette flore devra se nourrir : polysaccharides à longues chaînes droites (cellulose) ou ramifiées et hydrophiles (hémicelluloses et substances pectiques) mais protégés par des lipides complexes (cutine et subérine) à longues chaînes grasses dont la difficile hydrolyse peut libérer des composés volatiles odorants (l'évolution des constituants des cires cuticulaires est responsable, chez certains fruits, des odeurs libérées à maturité), des polyphénols et des tannins.

Source : MNHN, Paris

Une partie des informations est tirée des traités de RAPER et FENNEL (1965) et RAPER et THOM (1968); d'autres sont plus récentes et sont extraites notamment de la revue : *International Biodeterioration Bulletin* et de MOREAU (1974).

Nous signalerons les principales caractéristiques intéressantes pour chacune des espèces, présentées dans leur ordre systématique.

## 1 - Principales données concernant les moisissures recensées et susceptibles de justifier leur adaptation à ce substrat.

L'*Aspergillus conicus* Blochwitz : il appartient au «groupe *restrictus*».

Nous n'avons trouvé que très rarement mention de cette espèce. Mais il possède les caractéristiques biologiques de l'ensemble du groupe : ces espèces ne se développent que sur des substrats à très faibles teneurs en eau (aux environs de 14%). C'est pourquoi elles ne peuvent être mises en évidence que sur des milieux spéciaux où elles ont une croissance très lente et sont sous-estimées dans de nombreux travaux. Elles ont cependant été signalées dans les biodétériorations de matériel optique ou d'isolation, des grains, confitures, charcuteries sèches.

Ces espèces savent prélever «l'eau liée» des grosses molécules organiques au dépens desquelles elles vivent. Elles libèrent dans le substrat des molécules organiques plus petites et des molécules d'eau qui rendront possible l'installation d'autres espèces. C'est pourquoi on les considère comme pionnières sur des substrats difficilement attaquables.

Le *Penicillium frequentans* Westl. : c'est un «monoverticillé», chef de file de la «série *frequentans*».

Cette espèce, reconnue responsable de la subérose, est une des plus communément rencontrées par LACEY (1973) dans les usines de liège au Portugal. Nous l'avons nous-même signalée sur bouchons (MOREAU et al., 1976).

Le *P. frequentans* est communément associé à la décomposition lente, même en faible aérobiose, de matériaux variés d'origine organique. Il est très fréquemment trouvé dans les carburants d'aviation, dans les sols forestiers. On le signale dans des solutions concentrées d'acides citrique, tartrique, oxalique, lactique. Il ne risquera donc rien des traitements de bouchons par de faibles quantités de ces mêmes acides.

Ses modes de vie prouvent qu'il est capable de tirer sa nourriture de molécules réputées peu favorables à la croissance des êtres vivants. Pour justifier ce mode de vie, il dispose d'un arsenal biochimique riche parfois utilisé dans l'industrie : c'est un actif producteur d'acides organiques (notamment d'a. citrique, gluconique, oxalique) et d'enzymes (notamment de pectinase). C'est donc par attaques enzymatique et acide conjointes qu'il va pouvoir détruire certaines des molécules complexes de son substrat.

Source : MNHN, Paris

Parallèlement, il élabore plusieurs molécules à activité biologique reconnue: notamment des quinones et anthraquinones ainsi que de l'hadacidine; ces diverses substances lui rendent plus aisée la compétition vis-à-vis d'espèces concurrentes.

Le *P. spinulosum* Thom appartient à la même série. Il possède une grande partie des caractéristiques du précédent.

Selon RAPER et THOM (1968), sous les noms respectifs de *P. tannophagum* Stapp et Bortels et *P. tannatophilum* Stapp et Bortels, il a été signalé apte à pousser sur des solutions tanniques concentrées, les rendant inutilisables; il a également été signalé sur des cuirs.

COWLEY et WHITTINGHAM (1961), étudiant la composition chimique de l'humus de divers sols, montrent que les sols de prairies sont pauvres en tannins, ceux de diverses forêts, notamment celles de chênes, comportent de grandes quantités de tannins. Parmi les espèces communément trouvées dans ces sols, le *P. spinulosum* est très abondant. D'autre part, ces auteurs établissent que l'espèce pousse sur un milieu nutritif où la seule source de glucide est du tannin, aussi bien que sur glucose! Ceci implique un riche équipement enzymatique spécialisé dans la destruction des molécules de composés tanniques que normalement les plantes secrètent dans leurs assises protectrices, mais qui comptent aussi parmi les constituants normaux des vins.

Il a été signalé provoquant des «accidents d'arômes» sur des houblons de brasserie et des attaques sur diverses graines oléagineuses (ce qui indique une aptitude à la dégradation des composés lipidiques).

Le *P. purpurrescens* (Sopp) Raper et Thom appartient aussi à la «série *frequentans*».

Le *P. citreo-viride* Biourge appartient aux «monoverticillés» de la «série *decumbens*».

Cette espèce a d'abord été décrite sur cuir; elle est rendue responsable de la détérioration de matériel militaire.

Elle est capable de se développer sous des conditions limitées de nourriture et d'humidité, pousse très lentement; c'est, au même titre que l'*A. conicus*, une espèce pionnière capable d'ouvrir la voie à des formes plus destructrices; elle est vraisemblablement sous-estimée dans de nombreux résultats.

Elle est reconnue active secrétrice d'acide citrique et de citréoviridine, une molécule toxique.

Le *P. fellutanum* Biourge appartient aussi à la «série *decumbens*»; il présente le même type de croissance que la précédente espèce.

Il est reconnu responsable de détériorations de matériel militaire, de toiles de tentes, mais aussi de graines oléagineuses, telle l'arachide, et de beurre. Enfin, il a été signalé comme détruisant des tannins produits à Sumatra.

Le *P. adametzi* Zaleski est un «monoverticillé» de la «série *adametzi*».

Source : MNHN, Paris

Cette espèce a d'abord été décrite dans les sols forestiers de Pologne puis retrouvée régulièrement dans ce type de sols ailleurs dans le monde.

Récemment, GRANT (1976) la signale très largement répandue là où sont accumulées des écorces de *Pinus radiata* qui contiennent de 50 à 60% de leur poids sec en tannins condensés et polyphénols. Or l'espèce est capable de croître sur un milieu nutritif où des extraits tanniques sont les seules sources de carbone.

Le *P. lilacinum* Thom est un «biverticillé, asymétrique divariqué» de la «série *lilacinum*».

Il est capable de s'attaquer à des substrats variés y compris la soie artificielle; il est retrouvé régulièrement dans les sols forestiers. Ce champignon est remarquable par sa tolérance à divers composés chimiques; il peut croître dans des bains d'électrolyse du nickel, dans une solution d'acétate de sodium, de sulfate de cuivre, et dans de nombreuses solutions utilisées couramment dans les laboratoires.

Le *P. citrinum* Thom est un «biverticillé, asymétrique *velutina*» de la «série *citrinum*».

Cette espèce est fréquemment associée à la destruction des cuirs, de la laine et à des produits d'origine végétale à décomposition lente, présentant une grande variabilité de leur teneur en eau; on la signale dans les sols forestiers.

Reconnue fréquemment dans les détériorations de matériel militaire, d'appareils optiques (elle dépolit les lentilles), nous l'avons nous-même déjà rencontrée dans de graves altérations sur des fibres textiles de verre; elle s'attaque aussi à diverses matières plastiques.

C'est une active productrice d'acide citrique et gluconique.

Sa forte activité lipolytique lui permet de se développer aux dépens de graines oléagineuses dont elle «casse» les chaînes d'acides gras.

Elle secrète enfin de la citrinine, molécule hétérocyclique, antibiotique, soluble dans l'alcool, toxique sur les animaux.

Le *P. corylophilum* Dierckx appartient aussi à la «série *citrinum*».

LACEY (1973) le signale dans les usines de liège; on le trouve dans les sols forestiers.

Pour STRZELCZYK (1976), du laboratoire de protection des papiers et cuirs, en Pologne, c'est une des trois espèces régulièrement isolées de papiers, cependant traités par fongicides. En effet, l'auteur établit que cette moisissure s'adapte à la croissance sur des milieux nutritifs enrichis en acétate de phényl mercure, pentachlorocrésol, metacrésol, divers dérivés nitrés et chlorés du benzène, divers phénols, le pentachlorophénol. Toutes ces molécules sont normalement réputées toxiques pour les êtres vivants.

Enfin, elle élabore une molécule à activité antibiotique : la corylophiline.

Le *P. brevi-compactum* Dierckx est un «biverticillé asymétrique *velutina*» de la «série *brevi-compactum*».

Source : MNHN, Paris

C'est encore une espèce poussant très lentement donc généralement sous-estimée; elle a les caractères d'une espèce pionnière.

LACEY (1973) la trouve régulièrement dans les usines de liège.

On la rencontre dans les sols forestiers ou associée aux produits végétaux en décomposition lente (céréales notamment).

Cette moisissure élabore un mélange d'acides phénoliques, notamment l'a. mycophénolique à activité antibiotique.

Le *P. granulatum* Bainier est un «biverticillé asymétrique fasciculé» de la «série *granulatum*».

LACEY (1973) trouve cette espèce fréquemment dans les usines de liège.

Elle a été signalée aux Indes associée aux liqueurs tanniques.

COWLEY et WHITTINGHAM (1961) signalent que dans leurs essais elle pousse mieux sur milieu nutritif avec solution tannique que sur glucose. Elle est communément rencontrée dans les sols forestiers, de chênaie notamment.

Elle développe des odeurs aromatiques «fruitées à médicinales» qui seraient dues à des esters insaturés d'acides gras.

Bien que rien n'ait été signalé, à notre connaissance, quant aux activités antibiotiques de cette moisissures, nous avons constaté qu'elle était capable de provoquer une zone d'antibiose importante quand elle est en présence d'autres espèces, du *P. frequentans* et du *P. roqueforti* notamment.

Le *Paecilomyces variotii* Bain. est fréquemment rencontré dans les sols forestiers; il est responsable de détériorations variées notamment de grains, oeufs, margarine, soja, choucroute.

Il élabore plusieurs molécules antibiotiques.

Le *Trichoderma viride* Pers., signalé dans les usines de liège par LACEY (1973), est un champignon à très rapide développement si le substrat est humide; c'est un actif cellulolytique. C'est un agent réputé de dégradation des bois, papiers, cartons, fibres de coton même plastifiées.

D'autre part, comme il est capable de détruire les phénols chlorés (tel le pentachlorophénol), il peut s'attaquer à des matériaux ainsi traités et rendre possible l'installation postérieure d'autres champignons très dangereux sur les bois d'oeuvre.

Il élabore plusieurs substances antibiotiques; il est antagoniste vis-à-vis de bien d'autres espèces fongiques et peut même se développer en parasite sur leur mycélium.

Le *Penicillium roqueforti* Thom, un «biverticillé asymétrique *velutina*» de la «série *roqueforti*» est traité à part. En effet, nous ne l'avons rencontré qu'après bouchage ou dans les caves et avons vu que le vin lui était favorable.

Réputée dans la fabrication des fromages «bleus», cette moisissure est bien adaptée à la température des caves, mais aussi à des mélanges gazeux pauvres en $O_2$. On l'a rencontrée fréquemment dans des ensilages destinés à l'alimentation animale.

Source : MNHN, Paris

Associée à de multiples fermentations, elle sait croître en présence de solutions acides, de sel; ses activités enzymatiques, essentiellement lipolytiques et protéolytiques s'exercent sur les matières grasses et les protéines du lait. Les acides gras qui sont libérés seraient responsables des arômes particuliers du «Roquefort» et autres «Bleus».

## 2 - Résultats du métabolisme de ces moisissures et origines possibles des «goûts de bouchons».

Comme il est aisé de s'en rendre compte, la mycoflore que nous avons étudiée n'est pas constituée d'espèces banales mais de champignons pour lesquels le liège, par ses caractéristiques physiques et chimiques représente une niche écologique particulièrement conforme à leurs aptitudes. Cependant, sortant de la même usine, mais pas issues de la même fabrication, il est possible de trouver des balles saines ou très peu contaminées et d'autres très fortement. Les lièges n'ont à coup sûr pas connu la même histoire et peut-être ne sont-ils même pas issus des mêmes zones forestières du Portugal.

Si peu d'espèces ont, jusqu'ici, été signalées sur le liège, c'est seulement dû à l'insuffisance des travaux de mycologie consacrés à ce substrat. Mais les matériaux qu'elles sont reconnues capables d'attaquer exigent des aptitudes multiples qui leur permettent aussi de pouvoir vivre et proliférer sur le liège.

Elles sont reconnues avoir de grandes activités enzymatiques (hydrolyses, oxydations, réductions, etc.) pour «casser» les longues chaînes carbonées qui constituent le liège (polysaccharides, chaînes grasses, polymères des phénols, tannins, etc.) dont elles tireront leur énergie. Dès lors, pourront apparaître des molécules intermédiaires volatiles ou solubles en phase aqueuse ou alcoolique, ces substances étant de nature différente selon, bien sûr, l'espèce ou le cortège installé. Parallèlement, elles sont d'actives productrices d'acides organiques, de molécules antibiotiques, de mycotoxines, etc. . . variant en quantité avec les espèces concernées et les conditions dans lesquelles elles se sont développées.

Doivent encore s'ajouter les traitements de finition des bouchons où, selon les cas, interviennent de la paraffine, des silicones, des colles, des colorants alimentaires, chacun de ces substrats risquant lui-même d'être la proie de l'une ou l'autre de ces moisissures.

Le fait que les goûts dits «de bouchon» apparaissent très rapidement après le bouchage militerait en faveur de l'hypothèse de la diffusion, dans le vin, de l'un ou de plusieurs de ces composés aux odeurs ou saveurs désagréables, plutôt que d'une action directe d'une des moisissures sur le vin puisqu'elles sont très rapidement tuées à son contact.

Nous ne pouvons exclure, non plus, la possibilité qu'un des systèmes enzymatiques peu communs, élaborés en excès et fixé dans le liège, puisse engendrer quelques réactions indésirables sur l'un des constituants du vin appartenant

Source : MNHN, Paris

aux mêmes familles chimiques que ceux qu'il est apte à détruire sur ses substrats naturels.

Parce que les défauts observés, bien que très regrettables, ne concernent jamais qu'un nombre restreint de bouteilles dans un lot litigieux, nous supposons que l'espèce ou les espèces responsables ne sont pas nécessairement les plus fréquentes. Mais la diversité de la mycoflore d'origine, sa richesse métabolique, les possibilités aléatoires de prolifération de l'une des moisissures rendront la démonstration ardue.

Malgré certaines présomptions auxquelles nous avons fait allusion, il nous apparaîtrait hasardeux, dans l'état actuel de nos connaissances, de nous risquer à un pronostic parmi les trop nombreux suspects potentiels, mais établir celles des espèces directement responsables des altérations organoleptiques des vins nécessiterait encore une expérimentation longue et fastidieuse dont nous ne pensons pas qu'elle soit de première urgence.

En effet, pour des raisons d'éthique, puisque le *P. frequentans* est reconnu comme dangereux professionnellement, il semble nécessaire de le combattre. Or toute amélioration de l'hygiène des usines de liège ne pourra que retentir favorablement sur l'état sanitaire des lots de bouchons.

Il nous semble nécessaire de maîtriser la contamination des lièges et tout aussi indispensable de chercher à éliminer les nombreux dérivés métaboliques actifs, non désirables pour les vins. En effet, au mycologue familiarisé avec les multiples accidents provoqués, par ailleurs, par plusieurs de ces espèces, il est invraisemblable qu'aucune d'entre elles ne sache modifier les qualités intrinsèques du vin dans l'hypothèse où les conditions externes lui auraient permis de prendre de l'extension.

Tant que ces évidences ne seront pas admises dans les milieux professionnels, les risques resteront grands qu'une modification aléatoire des conditions ambiantes provoque un litige imprévisible et grave.

## BIBLIOGRAPHIE

AVILA R. et LACEY J., 1974 — The role of *Penicillium frequentans* in suberosis (respiratory disease in workers in the cork industry). *Clinical Allergy* 4 : 109-117.

COWLEY G.T. et WHITTINGHAM W.F., 1961 — The effect of tannin on the growth of selected soil microfungi in culture. *Mycologia* 53 : 540-542.

GRANT W.D., 1976 — Microbial degradation of condensed tannins. *Science* 193 : 1137-1139.

LACEY J., 1973 — The air spora of a Portuguese cork factory. *Ann. Occup. Hyg.* 16 : 223-230.

MARAIS P.G. et KRUGER M.M., 1975 — Fungus contamination of corks responsible for unpleasant odours in wine. *Phytophylactia* 7 : 115-116.

Source : MNHN, Paris

MOREAU C., 1970 – Les moisissures des farines panifiables. *Ann. Nutr. Alim.* 14 : 117-127.

MOREAU C., 1974 – Moisissures toxiques dans l'alimentation. Masson édit., Paris, 471 p.

MOREAU C., MOREAU M., CHOLLET M.M. et BOMPEIX G., 1964 – Recherches sur la maladie des «taches lenticellaires» de la pomme Golden. *Fruits* 19 : 507-519.

MOREAU C., MOREAU M. et PELHATE J., 1964 – Choix de milieux de culture sélectifs pour l'analyse des mycoflores osmophiles. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 80 : 234-246.

MOREAU M., 1977 – Altérations des bouchons par quelques moisissures. *Rev. Fr. Oenologie* 66 : 63-67.

MOREAU M., 1978 – Les moisissures des bouchons. *C. R. Acad. Agric. Fr.* (sous presse).

MOREAU M., MOREAU C. et LE BRAS M.A., 1976 – Quelques moisissures responsables d'altérations des bouchons de champagne. *Industr. Aliment. Agric.* 93 : 317-320.

PELHATE J., 1968 – Evolution de la mycoflore des blés en cours de conservation. *Industr. Alim. Agric.* 85 : 769-773.

PEHLATE J., 1968 – Contribution à l'étude écologique des moisissures des blés de conservation. Thèse Doctorat d'État, Fac. Sci. Brest, 66p.

PITT J.I., 1973 – An appraisal of identification methods for *Penicillium* species : novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. *Mycologia* 65 : 1135-1157.

RAPER K.B. et FENNEL D.I., 1965 – The genus *Aspergillus*. William et Wilkins Co edit., 686 p.

RAPER K.B. et THOM C., 1968 – A manual of the *Penicillia*. Hafner Publ. Co edit., 875 p.

SAMSON R.A., STOLK A.C. et HADLOK R., 1976 – Revision of the subsection *fasciculata* of *Penicillium* and some allied species. *Studies in Mycology* n° 4, 47 p.

STRZELCZYK A.B., 1976 – Adaptation to fungicides of fungi damaging paper. I. Influence of adaptation on morphology and anatomy of colonies and hyphae. *Int. Biodeterioration Bull.* 12 : 19-26.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

# MORPHOGENESE DES CARPOPHORES DE BASIDIOMYCETES SUPÉRIEURS

## Connaissances actuelles

G. MANACHERE *

Au cours de leur cycle vital, de nombreux Basidiomycètes supérieurs présentent une formation caractéristique, productrice de spores «sexuées» (1), le plus souvent aisément reconnaissable à l'oeil nu. Elle est généralement qualifiée du terme de carpophore, ou encore de «fruit-body» ou «Fruchtkörper» par les auteurs anglo-saxons, voire de «fructification» par les français : en toute rigueur, ces trois derniers noms sont impropres . . . dans la mesure où l'analogie avec le «fruit» des végétaux supérieurs est difficilement soutenable! Il serait donc préférable d'éviter leur utilisation. Par contre, les termes de «sporocarpe» ou de «sporophore» pourraient sembler des synonymes commodes. Ils ont aussi une valeur générale et qualifient des appareils producteurs de spores «sexuées» ou de spores «asexuées» (corémies, synnémas, sporangiophores, conidiophores de types divers . . .), mais ils ne sont qu'exceptionnellement utilisés par les auteurs francophones. Guère plus usité est le terme de «basidiocarpe» qui distingue le carpophore des Basidiomycètes de celui des Ascomycètes ou «ascocarpe».

Seuls seront évoqués ici les problèmes posés par la formation des carpophores de Basidiomycètes. On gardera toutefois en mémoire que, au moins au plan physiologique, les déterminismes de la morphogenèse de carpophores d'Asco-

(1) Le qualificatif de «sexuées» appliqué assez couramment aux basidiospores et aux ascospores est controversé. Le terme de méiospores serait plus approprié mais n'est guère usité.

* Université Lyon I, Département de Biologie Végétale, Laboratoire associé au C.N.R.S. n° 44, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69621 Villeurbanne, France.



Source : MNHN, Paris

mycètes - comme d'autres types de «sporophores» éventuellement, d'ailleurs - présentent des analogies avec ceux régissant le développement des basidiocarpes. En fait, les études morphogénétiques qui seront rapportées ci-dessous s'intègrent dans un cadre très général. TABER (1966), traitant de la morphogenèse des Basidiomycètes, rappelle : «The word morphogenesis refers to the process of development by which cells and tissues acquire their characteristic form. In all except spherical unicellular organisms it is an expression of directed but unequal growth». Le même auteur souligne fort justement que les difficultés rencontrées par le morphogénéticien sont grandement multipliées dès lors qu'il aborde des problèmes autres que ceux relevant de la seule génétique . . . déjà particulièrement complexes par eux-mêmes : «The fact that determination of form is ultimately under genetic control is self evident, but it is not evident how the information contained in the genetic code is transmitted, how some may be withheld until its expression is advantageous, or how the influence of the external environment manifests itself».

Durant ces dernières décennies, des études intensives ont été conduites afin de préciser les caractéristiques morphologiques, histologiques et cytologiques des divers types de basidiocarpes. SMITH (1966), TABER (1966) et BURNETT (1968) rappellent l'oeuvre exemplaire, en la matière, de CORNER, relative aux Agaricales, Polypores et Clavariacées. On ne saurait omettre d'évoquer également les travaux fondamentaux de REIJNDERS (1963) et de KUHNER (1926 et citations par REIJNDERS) consacrés essentiellement aux Agaricales. Schématiquement, les données apportées par ces divers auteurs sont de deux sortes : les unes permettent une analyse comparative de divers types de carpophores adultes, autrement dit, en l'état où ils sont ramassés dans la nature, donc, le plus souvent, porteurs de basidiospores mûres; les autres permettent d'esquisser l'ontogénie d'un type choisi, donc l'évolution morphogénétique conduisant à l'état final de carpophore mature . . . ceci dans la mesure où l'observateur a pu étudier des stades juvéniles et intermédiaires d'appareils reproducteurs pour l'espèce considérée. Cette dernière condition ne constitue pas la moindre des difficultés : trouver des primordiums de carpophores sur le terrain est souvent malaisé et en obtenir par culture du champignon au laboratoire reste aléatoire dans une majorité de cas.

Pour simplification, sauf rares exceptions, nous nous limiterons à exposer, à l'aide d'un nombre réduit d'exemples choisis pour leur valeur générale, l'état actuel des connaissances relatives aux déterminismes de la morphogenèse des carpophores de Basidiomycètes Agaricales, les espèces de ce dernier groupe ayant, de fait, été plus particulièrement étudiées.

REIJNDERS (1963) rappelle le point de vue de MOSS (1923) quant à l'intérêt des études ontogéniques appliquées au cas particulier des basidiocarpes d'Agaricales : elles permettent, d'une part la recherche des affinités d'espèces à position systématique incertaine, et d'autre part la détection d'affinités phylogénétiques. Toutefois, les «espoirs» ainsi placés dans les recherches ontogéniques ne se sont pas, finalement, toujours avérés fondés, tant sur le plan de la «mise en ordre» systématique que sur celui des concepts phylogénétiques. Dans l'im-

Source : MNHN, Paris

médiat, on soulignera surtout que la plupart des ontogénistes anciens, mais aussi actuels, ne se préoccupèrent que peu des aspects physiologiques du développement des basidiocarpes d'Agaricales et d'autres Basidiomycètes. Il est juste de concéder que, réciproquement, dans leur très grande majorité, les physiologistes et généticiens qui, depuis près d'un siècle, ont tenté d'élucider les problèmes fondamentaux posés par les déterminismes de la croissance et du développement des appareils reproducteurs des champignons supérieurs, limitèrent, le plus souvent, leurs observations au niveau macroscopique. Il est certain que, actuellement, une masse importante de données, souvent anciennes, existent, concernant les structures cyto-histologiques de basidiocarpes juvéniles ou adultes, tout comme ont été accumulés de nombreux renseignements, généralement plus récents, d'ordre génétique ou physiologique, relatifs à la morphogenèse de ces mêmes appareils reproducteurs. Mais on verra qu'il est exceptionnel que les divers types de résultats puissent être harmonieusement intégrés les uns aux autres et permettre une meilleure compréhension globale des déterminismes de la construction de ces basidiocarpes.

## LA FORMATION DES BASIDIOCARPES, DU POINT DE VUE ONTOGÉNIQUE

BURNETT (1968) rappelle que certaines structures sont présentées par tous les carpophores adultes. Ainsi en est-il de celles porteuses de spores, asques ou basides, qui sont fréquemment arrangées de manière régulière et parallèle, formant finalement un hyménium au sein duquel sont éventuellement intercalés d'autres types cellulaires stériles (ex: cystides). Par contre l'hyménium, composé de cellules apicales, est généralement soit «enveloppé» par un tissu stérile soit porté à l'air libre par un tissu également stérile. Pratiquement, c'est la forme de ces tissus stériles, variable en particulier selon les groupes systématiques, qui détermine la morphologie du carpophore adulte porteur de spores mûres et prêtes à être libérées. Dans le cas des Agaricales typiques, qui retiendront essentiellement notre attention, les hyméniums sont disposés en lamelles rayonnantes. Pour simplification nous n'envisagerons pas les cas des Bolétales, Polyporales, Hydnales et Gastéromycètes (ces groupes ont été relativement moins étudiés, sur le plan de l'ontogénie des carpophores, que celui des Agaricales, ainsi que précédemment mentionné).

De longue date, les chercheurs ont tenté de répondre à la question suivante : un basidiocarpe peut-il naître d'une seule cellule hyphale d'un mycélium potentiellement fructifère, ou bien résulte-t-il au contraire de l'agrégation de ramifications issues de plusieurs cellules voisines, comme dans le cas de sclérotes naissants ou de divers appareils conidiens en cours de formation (cf Thèse de GOUJON 1971, BOISSON 1973, BRETON 1975) ? Dès 1877, BREFELD avance que les ébauches de carpophores de *Coprinus stercorarius* pourraient naître d'une seule cellule. BULLER (1933) confirme ce point de vue, en observant des mycéliums fructifères de la même espèce. CHOW (1934) dans le

Source : MNHN, Paris

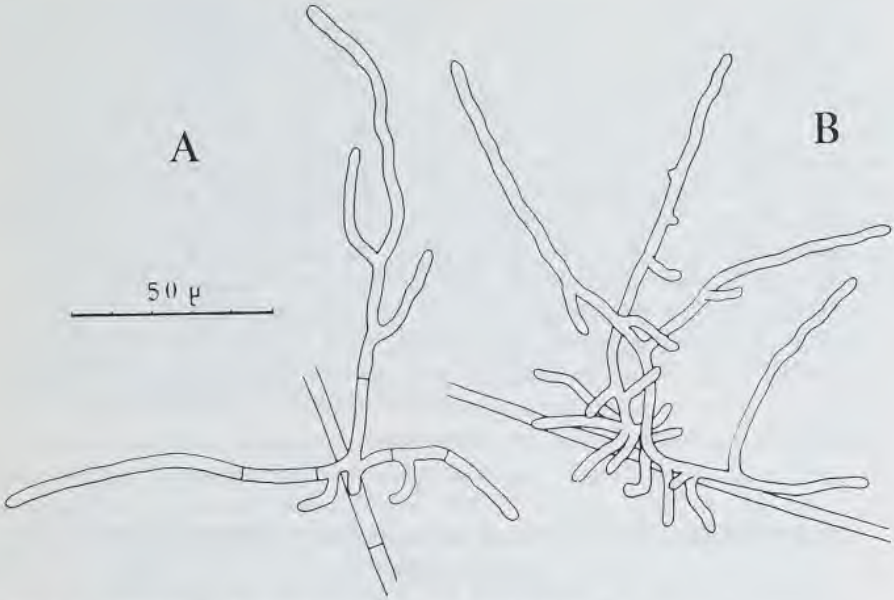



Fig. 1. — Primordiums de *Coprinus congregatus* : stades juvéniles.
A: stade - **110 h**, environ : rapports entre la jeune ébauche et l'hyphe originelle (observation au microscope). — B: stade - **108 h**, environ (d'après une photographie; les septa ne sont pas visibles).
(d'après HUGUENEY, in MANACHERE et al. 1974).

cas de *Coprinus tomentosus*, puis HUGUENEY dans celui de *Coprinus congregatus* (in MANACHERE et al. 1974, cf. figure 1) abondent dans le même sens. Force est de constater que les observations rapportées ci-dessus ne concernent que des Coprins, dont les carpophores sont souvent de taille relativement faible : ainsi, en culture, un carpophore adulte de *C. congregatus* présente normalement une taille de 4 à 8 centimètres, exceptionnellement 10, pour un poids frais variant de 70 à 250 mg. REIJNDERS (1963) admet que, pour de telles espèces, les carpophores pourraient effectivement naître d'une seule cellule. Toutefois, MATTHEWS et NIEDERPRUEM (1972), suite à de minutieuses observations in vivo, concluent que les primordiums de *Coprinus lagopus* ne naissent pas de ramifications d'une seule cellule, mais de «centres d'activation» résultant de l'interaction de cellules et produits par des systèmes de ramifications secondaires et tertiaires à partir d'hyphes du mycélium originel. Nous pensons d'ailleurs, avec REIJNDERS «qu'il paraît improbable que, surtout chez les plus grandes espèces, la liaison du carpophore avec le mycélium ne se fasse que par une hyphe . . . Cependant, il est difficile d'observer exactement la liaison avec le mycélium». Le problème de l'origine unicellulaire ou non du primordium reste donc actuellement entier pour la quasi totalité des espèces. C'est pourtant à plus d'un titre qu'il serait intéressant d'apporter une réponse à cette question :

Source : MNHN, Paris

ceci pourrait permettre d'établir comment les stipes des carpophores de nombreuses espèces peuvent conserver leur position normalement verticale . . . alors même que des liens particulièrement ténus, semble-t-il, les rattacheraient initialement au thalle mycélien originel; peut-être pourrait-on mieux concevoir alors les relations nutritionnelles entre les hyphes des basidiocarpes et celles du mycélium végétatif qui, à l'évidence, assurent l'alimentation des appareils reproducteurs. Dans certains cas, des systèmes macroscopiquement reconnaissables assurent le transport des éléments nutritifs : ainsi les rhizomorphes, ou faisceaux d'hyphes agrégés de l'*Armillaria mellea*; telles encore des «pseudorhizes» caractéristiques des carpophores de diverses espèces (*Collybia radicata, Coprinus macrorhizus*, genre *Termitomyces* . . .) dont l'ontogénie peut recevoir une explication physiologique (BULLER 1934; MANACHERE 1967; HEIM 1977). Ainsi, les primordiums de certaines espèces naissent en profondeur dans le sous-sol, mais les conditions - d'aération et d'éclairement, par exemple - y sont défavorables à une fructification normale. L'ébauche croît alors vers la

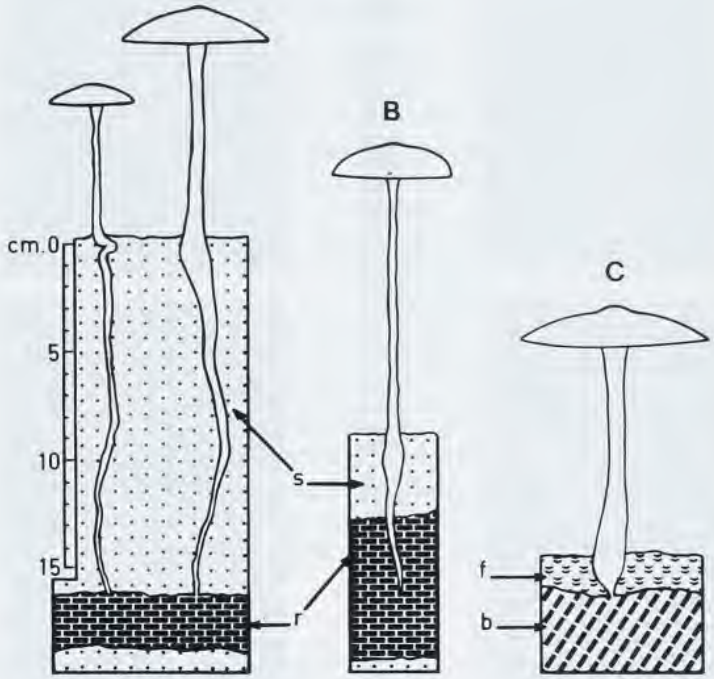



Fig. 2. — Carpophores de *Collybia radicata* pourvus de pseudorhizes et reliés à des racines d'arbres.

La pseudorhize est plus ou moins développée selon la profondeur de l'enfouissement de la racine (r) dans le sol (s). (cas A et B). Un carpophore présente une pseudorhize très réduite dans le cas d'un développement à partir du bois (b) d'une souche enfouie sous une litière de feuilles (f) de faible épaisseur (cas C). (d'après BULLER 1934).

Source : MNHN, Paris

surface, mais, tant qu'elle n'a pas atteint cette dernière, reste sous une forme à pied grêle et à chapeau réduit. Une fois la surface du sol rejointe, les conditions externes deviennent favorables à une formation normale du chapeau et à un épaississement généralement corrélatif de la partie sous-piléique du pied : à maturité, le carpophore présentera finalement sa forme caractéristique, à pied épaissi à sa partie supérieure et nanti d'une pseudorhize grêle à la base. BULLER a d'ailleurs montré qu'il est possible d'obtenir des carpophores de *C. radicata* sans . . . «pseudorhize» . . . en exhumant la souche, normalement enfouie, où sont nés les primordiums (figure 2).

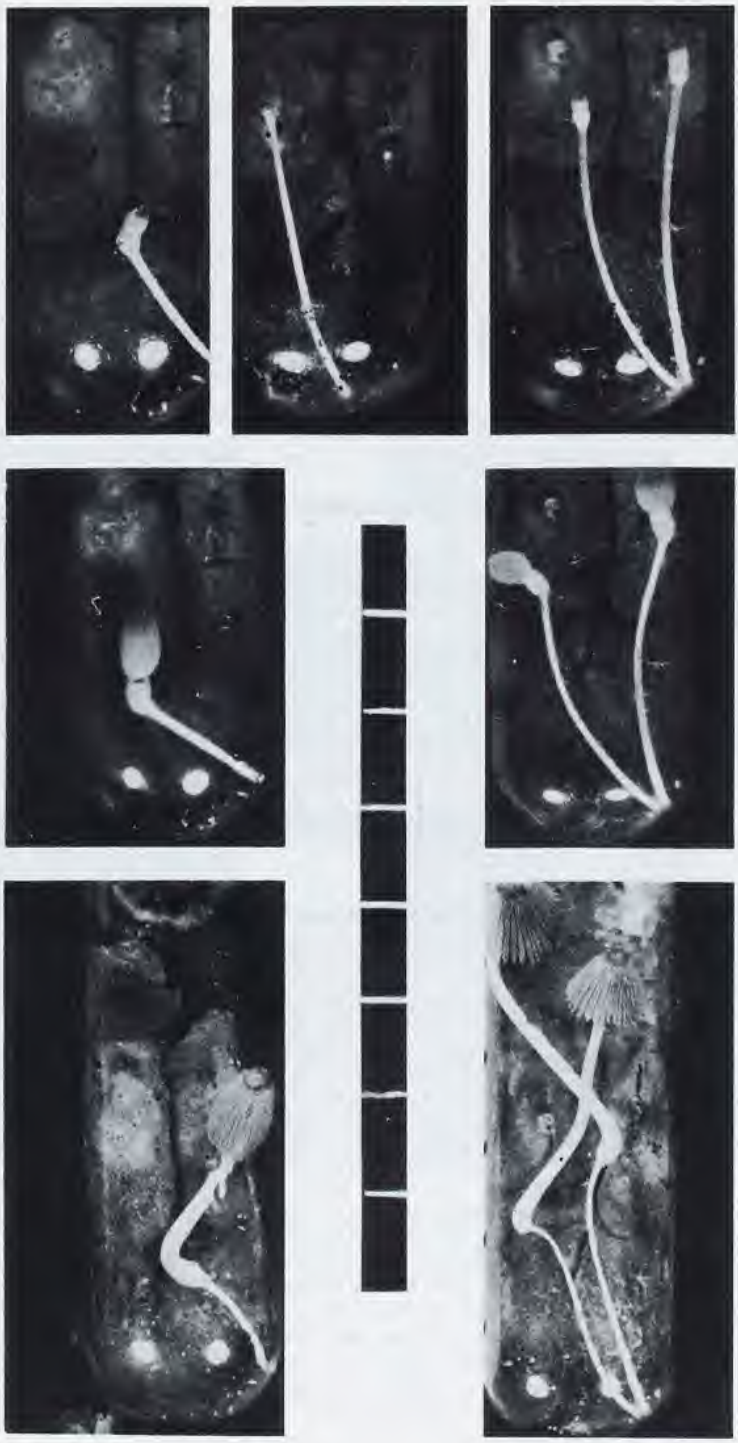
Que leur origine soit uni- ou pluricellulaire, des hyphes primordiales se réunissent donc pour constituer l'ébauche de carpophore ou primordium. REIJNDERS (1963) qualifie de protenchyme le tissu d'un tel primordium, dans la mesure où aucune différenciation ne s'y est encore manifestée. Toutefois, l'auteur reconnaît la difficulté pratique d'une distinction entre un protenchyme au sens strict, qui ne serait constitué effectivement que d'hyphes primordiales au sens de MALENÇON (1955, p. 84) . . . et un protenchyme au sens général qui serait « . . . le système formateur, . . . les hyphes en émanant et que l'on trouve après, par exemple, dans la trame du chapeau et surtout dans l'hyménophore . . . étant aussi des hyphes protenchymatiques».

Les données ci-après relatives au développement des carpophores de l'Agaricale *Coprinus congregatus* permettent de saisir la difficulté évoquée. Cultivé à l'obscurité, à la température de 25 ± 1°C les mycéliums végétatifs de ce champignon ne produisent pas de basidiocarpes ni même d'ébauches de ceux-ci. Par contre, éclairés à raison de 12 heures par jour à l'issue d'un pré-séjour à l'obscurité (cf. figure 4, et conditions générales in MANACHERE 1970), ils portent des carpophores mûrs et sporulants, dits au «stade 0 h», après 5 ou 6 jours, plus rarement après 4 ou 7 jours. Ce stade apparaît en début de photopériode. On a pu reconnaître et définir, tant morphologiquement que physiologiquement, des stades de développement caractéristiques précédant le stade 0 h, observables, par exemple, aux débuts et fins des photopériodes (figures 4 et 5; cf. description détaillée in MANACHERE 1967 p. 270). Ainsi que déjà mentionné, les mycéliums de *C. congregatus* ne portent aucun primordium reconnaissable au sortir d'un pré-séjour à l'obscurité. Toutefois, dans les cas les plus favorables, de jeunes ébauches sont déjà visibles environ 10 heures après le début de la première photopériode (figures 1A et 5A). Elles peuvent correspondre au stade - 110 h au sens où nous l'entendons. Selon HUGUENEY

Fig. 3. — Évolution d'ébauches de carpophores de *Coprinus congregatus* nées suite à un éclairement des cultures pendant 2 heures suivi d'un obscurcissement de 5 jours.

En haut, au milieu : ébauche avortée. **A gauche et à droite** : ébauches ayant repris leur développement sous des alternances quotidiennes de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité (cf. fig. 4 g, cas similaire): **en haut**, stade - 36 h; **au milieu**, stade - 12 h; **en bas**, stades 0 h. Graduation de l'échelle: 1 cm. Des conditions expérimentales appropriées permettent donc d'obtenir des carpophores avec pseudorhize . . . dans le cas d'une espèce n'en présentant pas «naturellement». (d'après MANACHERE 1967).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

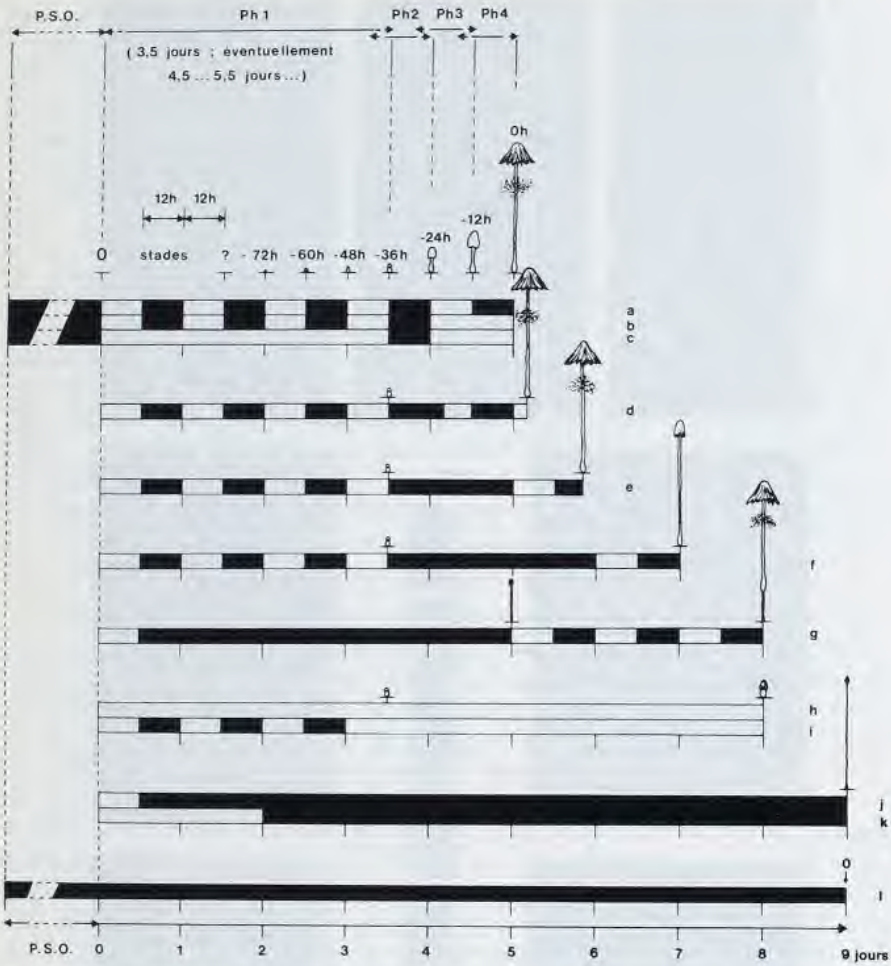



Fig. 4. — Fructifications normales et anormales de *Coprinus congregatus* en relation avec les conditions d'éclairement.

**En blanc**: périodes éclairées (100 à 150 lux); **en noir**: périodes obscures; P.S.O.: préséjour des cultures à l'obscurité, faisant suite au dépôt des implants à la surface du milieu de culture: durée 10 jours, par exemple; **température de culture**: 25 ± 1°C.

**Phases de développement des carpophores dans les cas de «fructifications normales»** : Ph 1: première phase photo-stimulée; Ph 2: phase photo-inhibée; Ph 3: deuxième phase photo-stimulée; Ph 4: phase photo-indifférente. **Fructifications normales** : sous le régime photopériodique de référence (cas a: alternances quotidiennes de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité), le stade de maturation-sporulation observable au début d'une photopériode est défini comme **stade 0 h**; les stades antérieurs sont définis par le nombre d'heures, précédé d'un signe négatif, nécessaires pour l'accomplissement du **stade 0 h** à partir du moment où ces stades sont observés. **Fructifications anormales** : sous diverses conditions d'illumination ou d'obscurité, et à partir de stades physiologiques précis (**stades - 48h, - 36 h, - 24 h . . .**), les primordiums se développent plus ou moins anormalement (cas d à k). (d'après MANACHERE 1967 et 1970).

Source : MNHN, Paris

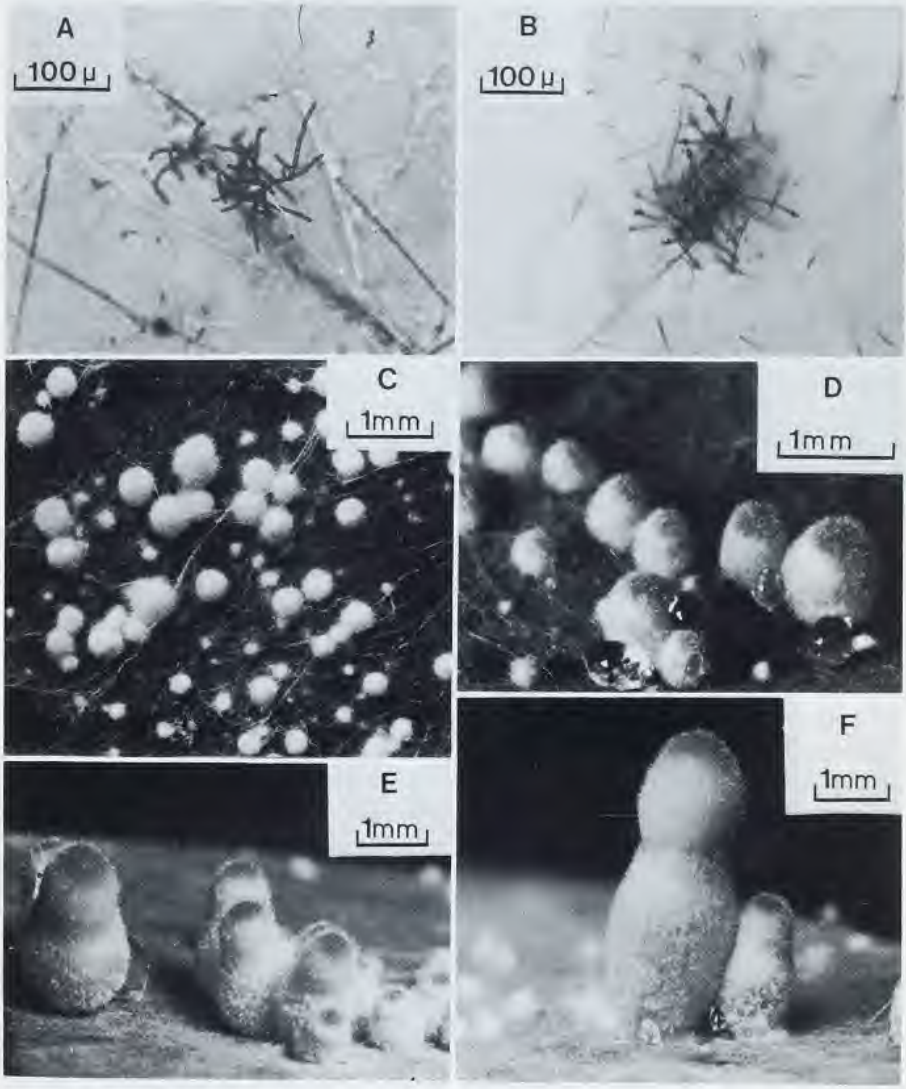



Fig. 5. – Stades de développement de carpophores de *Coprinus congregatus* à partir de mycéliums éclairés 12 heures par jour (250 lux environ) à la température de 25 ± 1°C.
A: st. - 110h; B: st. - 104h; C: st. - 84h; D: st. - 60h; E: st. - 48h; F: st. - 36h.
(Photographies R. HUGUENEY).

Source : MNHN, Paris

(in MANACHERE et al. 1974) la jeune ébauche se ramifie et prend rapidement une allure buissonnante caractéristique qui la distingue sans ambiguïté de toutes les autres différenciations mycéliennes. Ainsi, les articles terminaux de certaines hyphes de ces primordiums présentent l'aspect et le comportement physiologiques de poils caractérisant normalement le revêtement piléique des carpophores de cette espèce à des stades de développement plus avancés: les uns et les autres excrètent un liquide et portent, en outre, une couronne de cristaux à leur partie terminale. Des cellules «différenciées» sont donc observables très tôt, et l'on pourrait considérer que les hyphes du primordium au stade - 110 h, ne constituent plus un ensemble protenchymateux à proprement parler. Au stade - 96 h, on observe d'innombrables hyphes rayonnant dans le susbtrat à partir de la base des primordiums. Ces hyphes pourraient jouer un rôle dans la fixation et dans la nutrition des carpophores: il serait alors possible de parler, à leur propos, de «différenciation physiologique» à défaut de «différenciation cyto-morphologique» évidente. Enfin, dès le stade - 84 h, apparaissent à l'intérieur des primordiums des articles terminaux binucléés, rangés en palissade et formant l'ébauche du futur hyménium, c'est à dire de la couche de cellules parallèles qui se compose principalement de basides, destinées à produire ultérieurement, chacune, quatre basidiospores haploïdes. Notre point de vue serait de considérer que ce n'est qu'à compter du moment où cette ébauche hyméniale est reconnaissable que le primordium est véritablement sorti de l'état protenchymateux au «sens large». Sur le plan de la morphologie externe, ce n'est guère avant le stade - 72 h que les chapeaux peuvent devenir perceptibles à l'oeil nu, le primordium globuleux n'ayant alors guère plus de 0,5 à 1 millimètre de diamètre. Au stade - 60 h, les chapeaux apparaissent comme des ponctuations apicales brunes. Au stade - 36 h, les ébauches ont une taille de 1,5 à 5,5 mm, hauteur et largeur des chapeaux étant sensiblement identiques et égales au 1/3 environ de la hauteur générale. Les jeunes basides sont toujours binucléées. Au stade - 24 h, les carpophores atteignent une taille de 4,5 à 10 mm, celle des chapeaux, dont les bords demeurent accolés au pied, étant de 2 à 4 mm; dans de nombreuses basides, se produit alors une fusion nucléaire caractéristique constituant la première étape de la méiose (1). Au stade - 12 h, les bords des chapeaux sont écartés des pieds; la majorité des basides renferment quatre noyaux à n chromosomes chacun; dans les heures qui suivent, ceux-ci migreront dans les jeunes basidiospores produites aux extrémités des pointes, ou stérigmates, développées à la surface libre des basides (détails in MANACHERE 1968 a). Entre le stade - 12 h et le stade 0 h, les primordiums subissent une élongation spectaculaire, passant d'une taille de 10-20 mm à une hauteur terminale de 40 à 80 mm. Au stade 0 h, les carpophores présentent des chapeaux ouverts, noircis, sporulants puis subissant une autolyse rapide qui progresse à partir du bord libre et s'achève au bout de 3 à 4 heures.

(1) On notera que le «comportement nucléaire» dans les basides et les basidiospores de *C. congregatus* constitue un schéma classique, fréquemment rencontré chez les homobasidiomycètes. Des «variations» sont néanmoins observées dans le cas de nombreuses espèces: on se reportera à ce sujet à la mise au point récente rédigée par KUHNER (1977).

Source : MNHN, Paris

Fig. 6. — G: de gauche à droite: st. - 26h, - 22h, - 18h, - 14h, - 10h, - 6h, - 2h. H: Carpophores de *Coprinus congregatus* «synchrones» au stade 0 heure. (Photographie J. P. BRET).

L'ontogenèse des carpophores de *C. congregatus* sommairement décrite ci-dessus constitue un développement de type angiocarpique (figure 7). Selon REIJNDERS (1963) un primordium angiocarpe est un jeune carpophore . . . «. . . dont l'hyménophore naissant, ou la partie où l'hyménophore prendra ultérieurement naissance, est recouvert d'un tissu pendant une certaine période

Source : MNHN, Paris

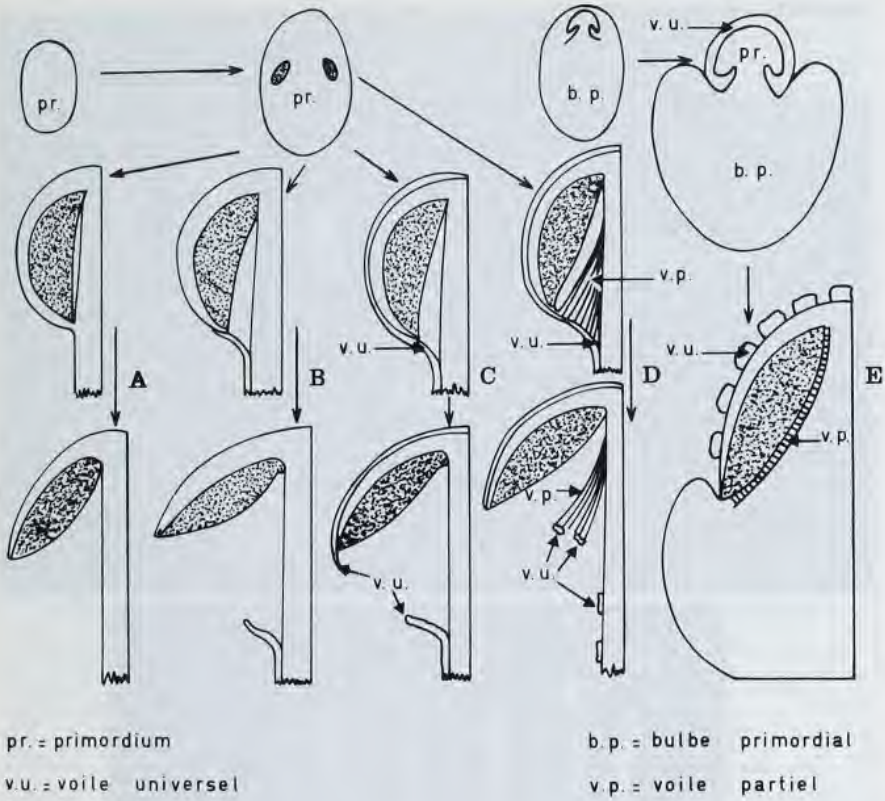



Fig. 7. — Divers types d'angiocarpie primaire.

A: Gymnangiocarpie. Pas de voiles. ex.: *Coprinus plicatilis* (Curt. ex Fr.) Fr. — B: Paravelangiocarpie. Seulement un voile partiel. ex.: *Agrocybe praecox* (Pers. ex Fr.) Fayod. — C: Monovelangiocarpie. Seulement un voile universel. ex.: *Cystoderma carcharias* (Pers. ex Secr.) Fayod. — D: Bivelangiocarpie. Un voile partiel et un voile universel. ex.: *Lepiota clypeolaria* (Bull. ex Fr.) Kummer. — E: Bulbangiocarpie. Un bulbe primordial. ex.: *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) Pers.

Cette figure, ainsi que la suivante, a été réalisée à partir de dessins originaux non publiés et faits, à notre demande, par Monsieur le Professeur KUHNER. Pour cette aide, et pour nous avoir fait part de ses suggestions, nous le prions d'accepter nos très vifs remerciements.

du développement». L'auteur distingue l'angiocarpie primaire et l'angiocarpie secondaire. La première . . . «se manifeste du fait que la marge piléique, l'hyménophore et parfois le pileus et le stipe se différencient au-dessous de la surface du protenchyme». Ce cas se rencontre typiquement pour les carpophores des *Agaricus* (cf. champignon cultivé dit «de Paris» ou *Agaricus bisporus*). Mais le développement du chapeau, bien qu'endogène, peut être plus superficiel que pour les *Agaricus* : ainsi en est-il dans le cas de *C. congregatus* et d'autres Coprins. Quant à l'angiocarpie secondaire, «. . . elle se manifeste du fait que

Source : MNHN, Paris

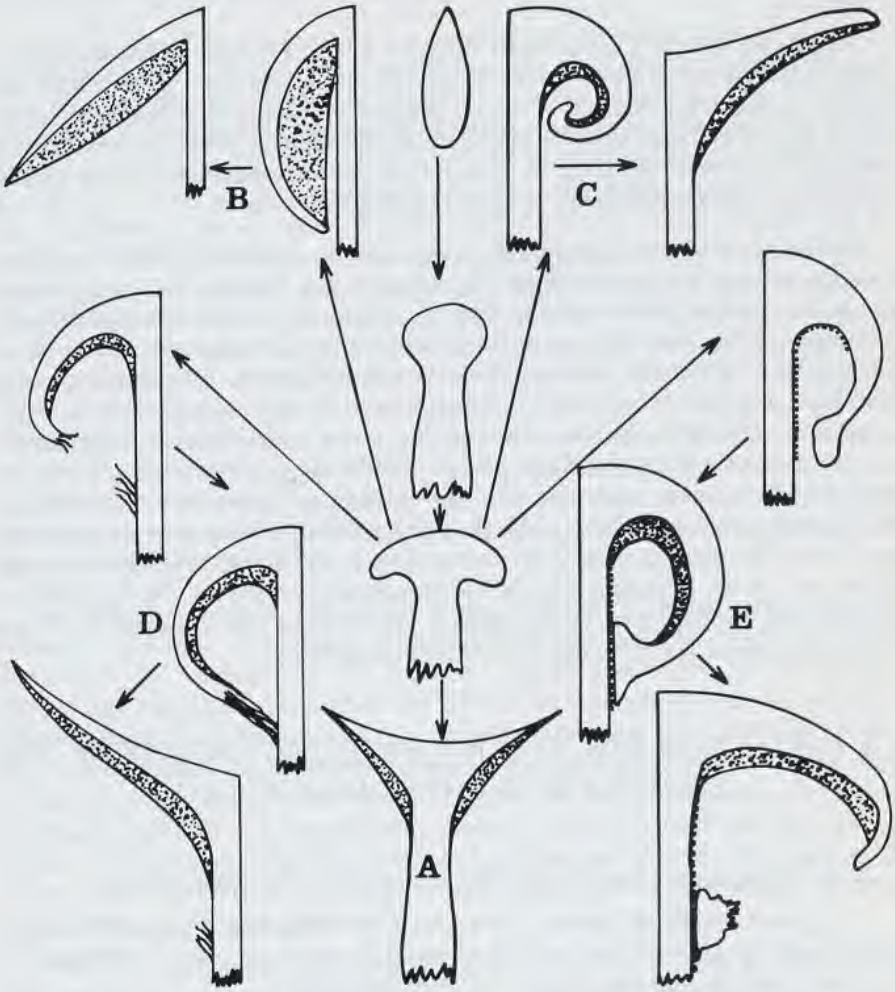



Fig. 8. — Gymnocarpie et angiocarpie secondaire.

Gymnocarpie. Pas de voile. — A: L'hyménophore n'est jamais abrité; ex.: *Panus conchatus* (Bull. ex Fr.) Fr. — B: L'hyménophore est temporairement abrité parce que le chapeau applique sa marge sur le stipe. ex.: *Mycena* (Pers. ex Fr.) Gray. — C: L'hyménophore est temporairement abrité par suite de l'enroulement de la marge du chapeau. ex.: *Paxillus involutus* (Batsch ex Fr.) Fr.

Angiocarpie secondaire. Un voile. — D: Une prolifération d'hyphes nées de la surface du stipe joue un rôle essentiel dans la formation du voile. ex.: *Lentinus tigrinus* (Bull. ex Fr.) Fr. — E: Une prolifération de la marge du chapeau joue le rôle essentiel dans la constitution du voile. ex.: *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing.

(Figure réalisée à partir de dessins originaux de R. KUHNER, cf. figure 7).

des hyphes d'une surface déjà différenciée (du pileus ou du stipe) se déjettent vers l'extérieur en recouvrant le primordium ou une partie de celui-ci». Ainsi

Source : MNHN, Paris

en est-il pour *Lentinus tigrinus*, pour *Pluteus admirabilis*, ou pour certaines Bolétales.

Schématiquement, l'angiocarpie s'oppose à une autre forme de développement, qualifiée de gymnocarpique (figure 8). Un primordium gymnocarpe est, toujours selon REIJNDERS, «. . . un primordium dont l'hyménophore est nu dès le début et dont aussi l'endroit où l'hyménophore prendra naissance n'a jamais été recouvert de tissu». A cette définition correspondent les carpophores d'espèces du type *Cantharellus* et ceux de plusieurs *Pleurotus*. . .

En fait, il convient de répéter que rares sont les occasions où les mycologues spécialisés dans la cyto-histologie des carpophores d'Agaricales - ou d'autres groupes - ont pu effectivement observer l'évolution des hyphes initiales puis des tissus dérivés, ceci jusqu'au stade terminal du basidiocarpe mûr. Les schémas ontogéniques proposés ci-dessus dérivent essentiellement d'observations fragmentaires à partir de stades de développement de telle ou telle espèce, stades souvent accidentellement récoltés dans la nature. L'idéal, bien évidemment, est la situation où le chercheur est en mesure de cultiver un mycélium qui produise de manière contrôlée des carpophores qui pourraient être prélevés et observés à des stades successifs de développement. Ici se pose de nouveaux problèmes, d'ordres génétique et physiologique : la culture contrôlée de mycéliums en vue de la production de basidiocarpes nécessite en effet la maîtrise de facteurs «endogènes» et «exogènes» responsables de la naissance de ces structures puis de leur développement jusqu'à maturité.

## LA FORMATION DES BASIDIOCARPES, DES POINTS DE VUE GÉNÉTIQUE ET PHYSIOLOGIQUE (1)

Nous distinguerons deux phases dans la formation des basidiocarpes :

- La phase initiale de déclenchement de la fructification à partir d'un mycélium jusque là végétatif; on parle fréquemment encore de «phase d'initiation», éventuellement de «carpogenèse» (REIJNDERS 1963);

- ensuite, mais sans hiatus reconnaissable, une phase morphogénétique («morphogenèse au sens strict», REIJNDERS 1963), au cours de laquelle s'élaboreront les diverses structures plus ou moins différenciées des basidiocarpes.

### I. LA PHASE DE DÉCLENCHEMENT

La réalisation de cette phase est sous la dépendance de facteurs «endogènes» et de divers facteurs de l'environnement, ou facteurs externes. Nous envisagerons successivement les interventions de facteurs de ces deux types.

(1) Des données complémentaires, relatives plus particulièrement au «champignon de couche», *Agaricus bisporus*, pourront être trouvées dans la mise au point bibliographique de COUVY 1973 (1974).

Source : MNHN, Paris

## ROLE DE FACTEURS «ENDOGENES»

La phase initiale, et, par voie de conséquence, la morphogenèse ultérieure des basidiocarpes, ne peut s'accomplir que si certaines conditions génétiques sont remplies (ESSER 1977). On sait qu'il existe des espèces dont les mycéliums issus de la germination d'une basidiospore unique peuvent produire des carpophores «haploïdes» (alias «monocaryotiques»). Cette situation semble néanmoins assez rare, et les carpophores formés sont éventuellement anormaux (ex.: *Polyporus ciliatus*, selon ESSER et STAHL 1975). Dans la plupart des cas, les mycéliums fructifères résultent de la plasmogamie de deux mycéliums haploïdes et compatibles : dans ces cas il existe théoriquement soit deux populations d'haplontes pour une espèce donnée (schéma de bipolarité) soit quatre populations (schéma de tétrapolarité). Diverses variantes viennent compliquer, dans la réalité, les modèles simples donnés ci-dessus (KUHNER 1977). Ainsi *Coprinus congregatus* entre dans la catégorie des espèces hétérothalles bipolaires. Toutefois, la confrontation de deux haplontes théoriquement compatibles ne conduit pas forcément à la formation de carpophores mûrs. Il est nécessaire que l'un, au moins, des deux haplontes présente l'aptitude à produire des ébauches haploïdes de carpophores, qui ne sont d'ailleurs pas viables dans la quasi-totalité des cas (MANACHERE 1970).

Des données récentes, mais dont la généralisation n'est pas possible actuellement, conduisent à envisager un rôle important de l'AMP cyclique dans la formation des carpophores de *Coprinus macrorhizus*. UNO et ISHIKAWA (1971) ont établi que des extraits acellulaires de carpophores ou de mycéliums dicaryotiques de ce champignon (ou d'autres Basidiomycètes : *Lentinus edodes, Tricholoma matsutake, Pleurotus ostreatus, Flammulina velutipes. . .*) pourraient induire la production de basidiocarpes à partir de mycéliums monocaryotiques de l'espèce étudiée. Les carpophores produits dans ces conditions sont un peu moins «évolués» que des basidiocarpes produits par des mycéliums dicaryotiques, mais, néanmoins, les basidiospores qu'ils forment sont viables, germent et s'avèrent être du type «parental».

Il est bon de rappeler ici que EGER (1965 a, b, 1968) avait antérieurement indiqué que la production de carpophores à partir d'un mycélium de *Flammulina (= Collybia) velutipes* peut être «stimulée» par l'addition de fragments de basidiocarpes de cette espèce . . . ou d'autres espèces. Il en est de même pour un *Pleurotus* «de Floride». La ou les substances stimulatrices ne seraient donc pas spécifiques.

UNO et ISHIKAWA attribuent, quant à eux, le pouvoir inducteur des extraits utilisés à une «fruiting-including substance», alias FIS. Ils identifient la FIS à l'AMP cyclique et à une protéine qui lui serait liée UNO et ISHIKAWA 1973). En effet, le mycélium monocaryotique d'un mutant «fis$^{c}$» de *C. macrorhizus* peut produire des carpophores à la lumière mais n'en forme pas à l'obscurité; parallèlement, un tel mycélium produit de l'AMP cyclique sous éclairement mais n'en élabore guère à l'obscurité. Dans le cas de *Coprinus «lagopus»*, MATTHEWS et NIEDERPRUEM (1972) constatent que l'addition d'AMP cyclique dans un milieu de culture appauvri en glucose conduit à une avance

Source : MNHN, Paris

de 24 heures de la formation d'amas d'hyphes qui évolueront en carpophores. Ces résultats sont à rapprocher de ceux, plus récents, de UNO et ISHIKAWA (1974) qui mentionnent qu'un excès de glucose dans le milieu nutritif inhibe la formation des carpophores de *C. macrorhizus*, que ce soit à partir du mycélium monocaryotique «fis$^{c}$» ou à partir d'un thalle dicaryotique. Ces derniers auteurs suggèrent que l'AMP cyclique interviendrait en contrôlant la synthèse d'enzyme inductibles jouant un rôle dans le déclenchement de la fructification.

Quel que soit le rôle physiologique précis de ce nucléotide, les résultats ci-dessus ont permis de mettre au point des méthodes d'obtention in vitro de la fructification d'espèces jusqu'alors «rétives» : un apport convenable d'AMP cyclique déterminerait l'apparition de primordiums à partir de mycéliums de *Boletus edulis* qui seraient restés stériles autrement (OYAMA et collab. 1974).

Des modifications de types divers peuvent être notées dans le thalle végétatif, à partir de l'initiation fructifère : certains auteurs ont observé que l'édification de basidiocarpes implique le transfert d'eau et de divers matériaux à partir du mycélium originel (*Agaricus bisporus* : BONNER et al. 1956; *Coprinus lagopus* : MADELIN 1956 a; *Polyporus brumalis* : PLUNKETT 1958; *Schizophyllum commune* : WESSELS 1965). MADELIN (1960) a ainsi noté, au moment du déclenchement de la fructification de *C. lagopus* la disparition de réserves nutritives - dont on peut supposer qu'elles sont de nature glycogénique et protéique - à partir de cellules plus particulièrement «gonflées» du mycélium végétatif.

Les diverses données ci-dessus ouvrent de nouvelles perspectives aux recherches relatives à la physiologie de la fructification des champignons supérieurs. Si elles établissent clairement que des facteurs «internes» (facteurs génétiques, substances métabolisées par le champignon du type FIS . . .) ont une importance fondamentale pour le déclenchement de la fructification, elles montrent le rôle également primordial des facteurs «externes» (lumière, composition du substrat nutritif . . .).

## ROLE DE FACTEURS «EXTERNES»

### Rôle des facteurs nutritionnels

Comme dans le cas de *C. macrorhizus* évoqué ci-dessus (travaux de UNO et ISHIKAWA 1974), l'inhibition de toute fructification par un excès alimentaire en glucose a été mentionnée pour diverses espèces telles que *Agaricus bisporus* (COUVY 1972) et *Coprinus congregatus* (MANACHERE 1970, 1974). Il convient néanmoins de souligner que le glucose peut, éventuellement, n'exercer un effet inhibiteur que dans la mesure où certains autres constituants du milieu nutritif interviennent comme facteurs limitants. Ainsi, dans le cas de *C. congregatus*, l'inhibition due à ce glucide peut être levée par un apport complémentaire convenable d'asparagine (tableau 1a). D'autre part, la nature même des sources de carbone ou d'azote incorporées au substrat nutritif peut être impliquée dans l'initiation de la fructification, les réactions variant, en

Source : MNHN, Paris

(a) Influence de différents substrats nutritifs sur le nombre de carpophores mûrs ( = stade 0 h) produits par les cultures .

| Substrats nutritifs | | Nombre de carpophores mûrs ( = stade 0h.) pour 20 cultures . | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Volée A | Volées B+C+D... | Total |
| n°1 | (M.B.) + ASP + GL | 27 | 95 | 122 |
| n°2 | (M.B.) + ASP | 50 | 47 | 97 |
| n°3 | (M.B.) | 35 | 66 | 101 |
| n°4 | (M.B.) + GL | 0 | 0 | 0 |

Nota : cultures soumises à la lumière artificielle, 12 h. par jour, pendant 36 jours, après un pré-séjour à l'obscurité (P.S.O.) d'une durée de 14 jours .

(b) Influence d'un pré-séjour à l'obscurité (P.S.O.) de durée variable sur le nombre de carpophores mûrs (= stade 0 h.) produits par des cultures sur différents substrats nutritifs .

| P.S.O. jours | Substrats nutritifs | Nombre de carpophores mûrs ( = stade 0h.) pour 20 cultures, volée A seulement |
|---|---|---|
| 0j. | n°1 (M.B.) + ASP + GL | 33 |
| | n°2 (M.B.) + ASP | 39 |
| | n°3 (M.B.) | 38 |
| 10j. | n°1 (M.B.) + ASP + GL | 51 |
| | n°2 (M.B.) + ASP | 78 |
| | n°3 (M.B.) | 43 |
| 35j. | n°1 (M.B.) + ASP + GL | 45 |
| | n°2 (M.B.) + ASP | 4 |
| | n°3 (M.B.) | 41 |

Nota : Cultures soumises à la lumière artificielle, 12 h. par jou-r, pendant au moins 24 jours, après des pré-séjours à l'obscurité (P.S.O.) de durées variables (0, 10, ou 35 jours) selon les séries .

| | | | |
|---|---|---|---|
| *(M.B.) | - $H_2O$ distillée : | 1000 | cc |
| | - Agar : | 12 | g |
| | - Extrait de Malt : | 10 | g |
| | - Caséine hydrolysat : | 0.7 | g |
| | - $KH_2PO_4$ : | 0.2 | g |
| | - $MgSO_4$, 7 $H_2O$ : | 0.1 | g |
| *ASP | L (+) Asparagine | 0.65 | g |
| *GL | Glucose pur anhydre | 10 | g |

Tableau I. — Influence de différents substrats nutritifs et de pré-séjours à l'obscurité de durées variables, sur la fructification de *Coprinus congregatus* (d'après MANACHERE 1970).

Source : MNHN, Paris

(a) C. congregatus, C. heptemerus, C. sassii

| Substrats nutritifs | Fructification | | |
|---|---|---|---|
| | Coprinus congregatus | Coprinus heptemerus | Coprinus sassii |
| A + 1% Maltose + extrait de crottin | + | + | + |
| A + 1% Maltose + extrait de levure | + | + | + |
| A + 1% Maltose + 50 γ vit. B1/1000 cc | + | + | + |
| A + 1% Glucose + 50 γ vit. B1/1000 cc | + | - | - |
| A + 1% Saccharose + 50 γ vit. B1/1000 cc | (+) | (+) | (+) |

(b) C. sassii

| Substrats nutritifs | | | Fructification |
|---|---|---|---|
| Variante milieu A + Maltose (≠ concentrations) | | | - |
| idem, additionné de | extrait de crottin ou extrait de levure ou vitamines (vitamine B1 + nicotinamide 150 γ / 1000cc chacune) | | + |
| idem, additionné de | | Asparagine 5ml/1000 cc d'une solution à 13,5g/1000 cc | - |

. Légende : + fructification normale ;
(+) carpophores "rabougris" ;
- pas de fructification .

. Milieu de base A : - $H_2O$ distillée : 1000 cc
- Agar : 10 g
- $Mg\ SO_4$, 7 $H_2O$ : 0,5 g
- $Ca\ (NO_3)$, 4 $H_2O$ : 0,5 g
- $K_2HPO_4$ : 0,25 g

Tableau II. — Influence de différents substrats nutritifs sur la fructification de *Coprinus congregatus, Coprinus hepteremus, Coprinus sassii* (d'après BILLE-HANSEN 1953a et b).

outre, d'une espèce à une autre. Ainsi, la fructification de certains Coprins *(C. heptemerus, C. sassii)* semble inhibée par le glucose, contrairement à celle de *C. congregatus* (BILLE-HANSEN 1953b, cf. tableau II). HAWKER (1966, p. 439) indique que des sucres «complexes» peuvent exercer, sur le plan de la carpogenèse, une action plus favorable que certains hexoses. L'asparagine paraît

Source : MNHN, Paris

empêcher la reproduction de divers Basidiomycètes (*Coprinus sassii* : BILLE-HANSEN 1953 a; *Coprinus lagopus* : MADELIN 1956 a; *Sphaerobolus stellatus* : ALASOADURA 1963) mais favoriser celle de quelques autres (*Merulius lacrymans* : ZUR LIPPE et NESEMANN 1959; *Coprinus lagopus:* SCHELLER-CORRENS 1957; *Coprinus congregatus*, sous certaines conditions, cf. tableau Ib et MANACHERE 1970). Les résultats apparemment contradictoires de MADELIN et SCHELER-CORRENS concernant l'influence de l'asparagine sur la fructification de *C. «lagopus»* peuvent être dus à une différence dans la nature génétique des souches utilisées. Ils peuvent aussi s'expliquer par la différence des sources de carbone incorporées aux substrats par les auteurs (MADELIN : glucose; SCHELER-CORRENS : maltose) ou encore par une différence du rapport C/N entre les substrats. A ce dernier point de vue, il a été démontré que,

| Asparagine (g/l) | Glucose (g/l) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 40 |
| 0 | a 0<br>b **5**<br>c 24j | 50<br>**12**<br>16j | 100<br>**11**<br>33j | 200<br>**0** | 400<br>**0** |
| 0,5 | a 1.2<br>b **0** | 15<br>**9**<br>10j | 29<br>**11**<br>13j | 56<br>**11**<br>32j | 111<br>**0** |
| 0,65 | 1.3<br>**0** | 13<br>**9**<br>9j | 24<br>**12**<br>13j | 46<br>**11**<br>37j | 91<br>**0** |
| 1,0 | 1.4<br>**0** | 9<br>éb. | 17<br>**11**<br>12j | 33<br>**12**<br>27j | 65<br>**11**<br>85j |
| 2,0 | 1.6<br>**0** | 6<br>éb. | 10<br>éb. | 19<br>**11**<br>17j | 36<br>**11**<br>61j |
| 4,0 | 1.6<br>**0** | 4<br>éb. | 6<br>éb. | 11<br>éb. | 20<br>**9**<br>62j |

Tableau III. — Influence des concentrations en glucose, en asparagine et du rapport C/N sur la fructification de *Coprinus congregatus* (d'après HORRIERE 1976).

(a) rapports pondéraux C/N des 30 substrats nutritifs étudiés. — (b) nombre de cultures (sur 12 par série) ayant produit des carpophores mûrs (**stade 0h**); les cases où figure l'indication **éb.** correspondent aux substrats sur lesquels certaines cultures ont produit seulement des ébauches de carpophores; les cases marquées **0** correspondent aux milieux pour lesquels aucune culture n'a porté d'ébauche. — (c) délais moyens pour l'observation des premiers carpophores mûrs produits par celles des 12 cultures de chaque série ayant fructifié, et exprimés en nombre de jours à partir du bouturage. **L'ensemble encadré d'un trait épais** correspond aux substrats pour lesquels des cultures ont produit des carpophores arrivés à maturité (**stade 0h**).

Source : MNHN, Paris

pour *Coprinus congregatus*, aucune ébauche visible de carpophore n'est produite par les mycéliums cultivés sur des milieux où le rapport C/N est supérieur à 100, la source principale de carbone étant le glucose et celle d'azote l'asparagine (HORRIERE 1976, cf. tableau III). Dans le cas de *Schizophyllum commune*, NIEDERPRUEM et al. (1964) ont montré que l'asparagine stimule la fructification à une certaine teneur . . . mais inhibe le phénomène quand elle est présente en excès dans le milieu. Ces remarques corroborent celles, antérieures, de PLUNKETT (1953) et ASCHAN (1954) relatives à *Collybia (= Flammulina) velutipes*.

C'est donc avec la plus extrême prudence qu'il convient actuellement d'interpréter - et, a fortiori, de généraliser - certains résultats isolés (cf. VOLZ et BENEKE 1969). Toujours sur le plan nutritionnel, on doit souligner l'importance de la présence de la thiamine, ou vitamine $B_1$, dans le substrat pour l'induction de la carpogenèse (HAWKER 1942; WESSELS 1965; MANACHERE 1970; HORRIERE 1977). Cette vitamine pourrait être responsable d'une augmentation de la consommation, par voie respiratoire, de sucres tels que le glucose (WESSELS 1965); on verra ultérieurement que l'acquisition, par un thalle mycélien, d'un actif métabolisme respiratoire est souvent considéré comme le «signal», sinon la cause, d'un engagement dans une phase de différenciation, les hyphes s'arrangeant alors en structures multihyphales destinées à former les ébauches de carpophores, et cessant de croître individuellement en toutes directions.

Les recherches nutritionnelles sur la carpogenèse conduisent tout naturellement à se poser le problème des aspects métaboliques du phénomène. Des données fragmentaires sont connues, mais qui ne permettent pas, actuellement, de proposer un schéma général satisfaisant des mécanismes impliqués dans l'initiation de la fructification. Étudiant les activités phénoloxydasiques en relation avec la fructification de *Agaricus bisporus*, TURNER (1974) montre que l'activité de la laccase caractérise la phase végétative, tandis que celle de la tyrosinase augmente au moment de l'initiation et du développement des ébauches de carpophores. L'auteur rappelle que l'augmentation de l'activité tyrosinasique parallèlement à la progression de la fructification a été mentionnée pour des champignons divers, en dehors des Basidiomycètes. Toutefois, les résultats de TURNER sont à envisager sous l'angle spécifique de la fructification de l'Agaric cultivé : l'auteur considère que l'augmentation de la laccase extracellulaire dans le compost (= substrat nutritif usuel de *Agaricus bisporus*, à base de paille fermentée, par exemple) pendant la phase de colonisation, puis sa disparition au moment où se développe la première «volée» de carpophores, sont liées à une attaque de la lignine du substrat par le mycélium au cours de sa croissance. L'activation de la tyrosinase pendant la formation de structures reproductives pourrait résulter de l'appauvrissement du milieu à l'issue de la phase végétative. Pour le même champignon, WOOD et GOODENOUGH (1977) observent une évolution inverse de l'activité de la carboxyméthyl-cellulase par rapport à celle de la laccase au fur et à mesure que la fructification progresse, ceci en cultures axéniques (figure 9); les mêmes auteurs ne notent aucune variation significative d'activité d'autres enzymes (xylanase, laminarase, phosphatases acide et alcaline, protéase alcaline). L'augmentation de l'activité cellu-

Source : MNHN, Paris

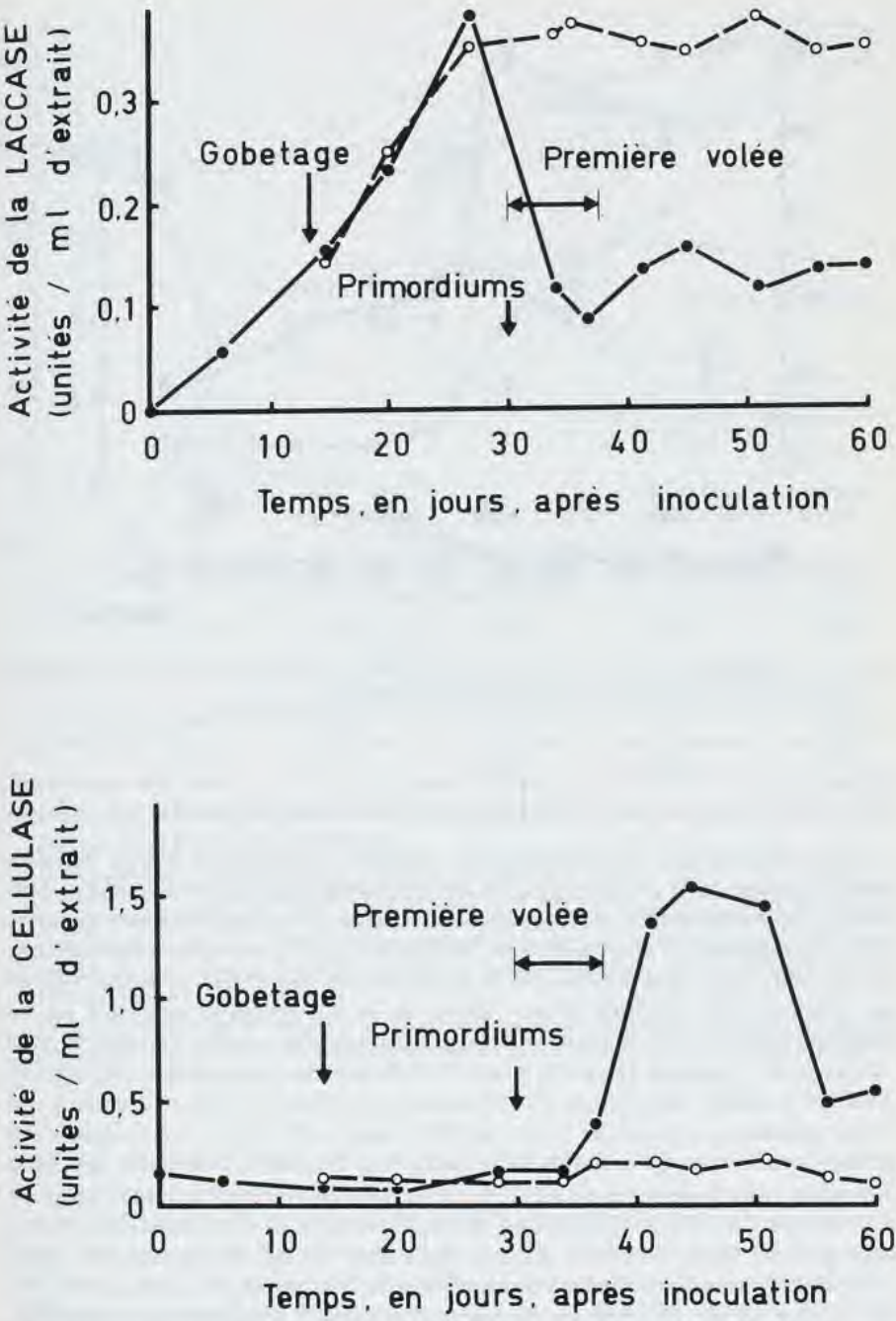



Figure 9. — Activités de la laccase et de la cellulase dans le compost de cultures de *Agaricus bisporus* fructifères (courbes en traits continus) ou non fructifères (courbes en traits discontinus). La «non-fructification» de certaines des cultures résulte du fait que le compost n'a pas été «gobeté». (d'après WOOD et GOODENOUGH 1977).

Source : MNHN, Paris

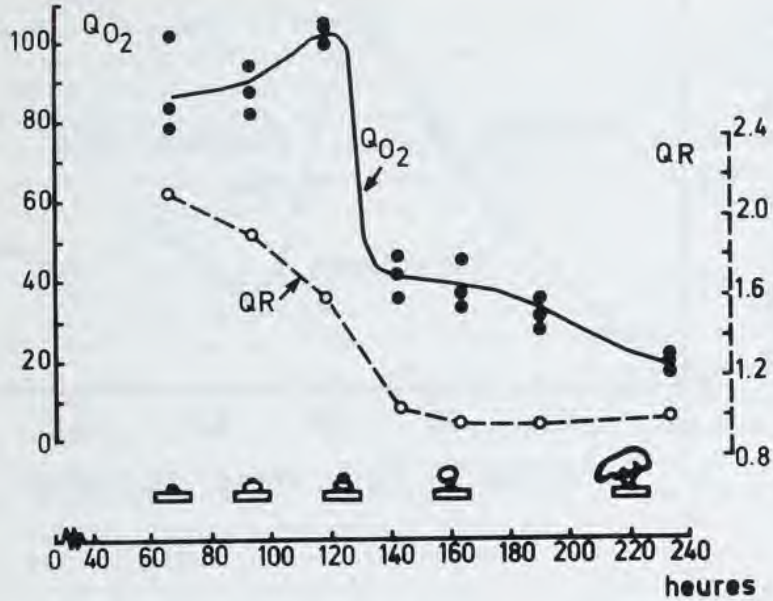



Fig. 10. — Respiration ($Q_{O_2}$) et Quotient respiratoire (QR) d'une souche «sauvage» de *Schizophyllum commune*. (d'après WESSELS 1965).

lasique pourrait contribuer à la libération de mono- et disaccharides assimilables par les mycéliums et pouvant participer à la formation des carpophores.

Pour fragmentaires qu'ils soient, les résultats actuellement acquis montrent que le passage de la phase végétative de croissance mycélienne à la phase d'initiation des primordiums s'accompagne de changements métaboliques importants. On peut rappeler ici les travaux de WESSELS (1965) sur *Schizophyllum commune*, bien que cette espèce soit à la limite des Agaricales. L'auteur montre que l'activité métabolique d'une culture de ce champignon, appréciée par les échanges gazeux, est d'abord de type «fermentaire», puis devient du type «respiratoire» lorsque débute la phase d'initiation des primordiums (figure 10). WESSELS établit ainsi, pour *S. commune*, un schéma considéré comme ayant valeur générale par plusieurs autres auteurs ayant étudié les aspects métaboliques de la reproduction de champignons divers (cf. TURIAN 1969). En fait, cette évolution métabolique apparaît comme vraisemblablement liée aux variations des teneurs en divers métabolites, particulièrement des hydrates de carbone, tout d'abord dans le milieu nutritif, puis dans le mycélium végétatif. Ainsi WESSELS montre que l'initiation fructifère de *S. commune* ne peut se produire que si une source de carbone et une source d'azote exogène sont disponibles. Au-delà du stade initial, les besoins diffèrent, ainsi que nous le verrons ci-après. STEWART et MOORE (1974) montrent que les quantités de sucres réducteurs et d'azote sous forme α-aminée diminuent dans le substrat nutritif au cours

Source : MNHN, Paris

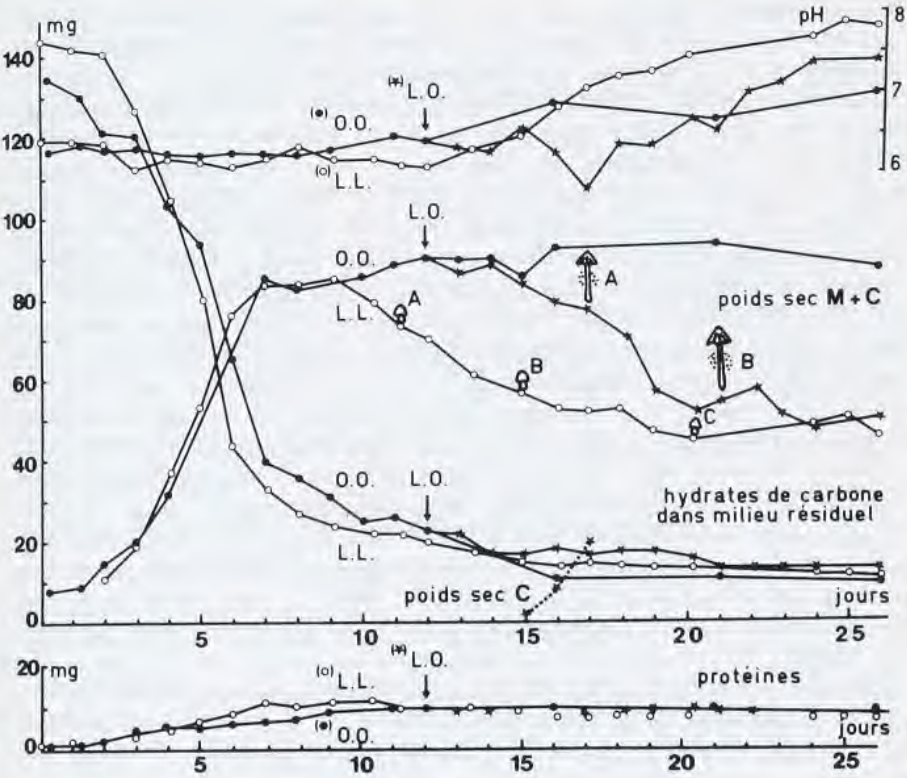



Fig. 11. — Changements biochimiques dans des cultures de *Coprinus congregatus* développées sur un substrat semi-synthétique.

(L.O.): régime photo-périodique (alternances quotidiennes de 12 h de lumière et 12 h d'obscurité). — (L.L.): lumière ininterrompue dès bouturage. — (OO): obscurité ininterrompue dès bouturage. La flèche, au 12ème jour, indique la fin du pré-séjour à l'obscurité, quand les cultures (L.O.) ont été placées sous régime photopériodique. A, B, C sont les vagues successives de fructification, les carpophores étant normaux sous régime (L.O.) et avortant sous régime (L.L.).

N.B.: les variations indiquées concernent les cultures considérées dans leur intégralité (mycélium végétatif, M, + carpophores plus ou moins développés, C. (d'après ROBERT 1977 b).

des jours séparant le début de la culture et l'observation des premières ébauches de carpophores de *Coprinus «lagopus»*. ROBERT (1977 b) montre que l'initiation fructifère de *C. congregatus* se produit quand le glucose du milieu nutritif a été résorbé dans sa quasi totalité (figure 11). On peut encore noter que, en moyenne, le pH du milieu de culture tend à devenir plus basique quand apparaissent les primordiums (*Coprinus «lagopus»* : STEWART et MOORE 1974; *Coprinus congregatus* : ROBERT 1977 b, cf. figure 11; HORRIERE 1977).

En marge des problèmes nutritionnels et métaboliques de l'initiation fructifère, on peut rappeler ici que divers exemples de stimulation de la fructification

Source : MNHN, Paris

de champignons supérieurs par des microorganismes sont connus. Plusieurs expérimentateurs ont, de longue date, observé la naissance préférentielle de carpophores dans des zones mycéliennes contaminées par un *Penicillium* ou une bactérie. SALAS et HANCOCK (1972) signalent que *Penicillium oxalicum* permet une spectaculaire augmentation de la production de basidiocarpes de *Mycena citricolor* quand les deux espèces sont co-cultivées. Les auteurs attribuent les effets du *Penicillium* à une (ou des) «basidiocarp-stimulating substance (s)» (= BSS). Le problème posé par l'intervention éventuelle de microorganismes dans le déclenchement de la fructification d'*Agaricus bisporus* présente un intérêt sur le plan fondamental et sur celui de l'application (cf. COUVY 1973/74). En effet, l'Agaric cultivé ne fructifie pas en conditions stériles, sinon exceptionnellement (WOOD 1976). PARK et AGNIHOTRI (1969) considèrent que les microorganismes de la terre de gobetage dont on recouvre les meules ou les caisses de culture ont un effet positif sur la fructification. Ce point de vue est partagé par EGER (1972). Il se pose évidemment le problème du mode d'action exact des microorganismes ainsi impliqués dans la fructification. COUVY (1973/ 74) rappelle que deux hypothèses peuvent être émises : ou bien les microorganismes libèrent dans le milieu des métabolites permettant l'induction de la fructification, ou bien la microflore peut utiliser des métabolites produits par le mycélium d'Agarics et, par voie de conséquence, supprimer des substances toxiques qui pourraient gêner la fructification d'*Agaricus bisporus*. WOOD (1976) considère la seconde hypothèse comme actuellement la plus plausible : en effet, la fructification n'est pas stimulée par des filtrats de culture ou des suspensions de *Pseudomonas putida* (ou d'autres bactéries présentes habituellement dans les cultures du «Champignon de couche») . . . ni non plus, d'ailleurs, . . . par l'AMP cyclique; par contre, en culture stérile, la fructification est facilitée par la présence de charbon actif, lequel retient des facteurs actuellement indéterminés (EGER 1961, COUVY 1974 b, LONG et JACOBS 1974). On peut donc envisager que le rôle de la microflore accompagnant le mycélium d'*A. bisporus* serait d'éliminer des inhibiteurs de la fructification plutôt que de produire des substances inductrices.

Si le déclenchement de la fructification est fondamentalement dépendant de facteurs génétiques et nutritifs, ou encore de stimulateurs ou d'inhibiteurs divers, actuellement non identifiés, il est également fonction de divers facteurs physiques de l'environnement : teneur en eau de l'atmosphère et du substrat, teneurs atmosphériques en gaz carbonique et oxygène, température, lumière, obscurité. .

### Rôle des facteurs physiques de l'environnement

#### Rôle du facteur humidité

Le rôle du facteur «humidité» est mal connu. COUVY (1973/74) avance que «la fructification des macromycètes à chapeau charnu nécessite généralement une hygrométrie d'air élevée». A l'inverse, une humidité relative excessive a été reconnue comme pouvant, dans certaines conditions expérimentales, empêcher la naissance de primordiums (cas de *Polyporus brumalis*, PLUNKETT 1956, cf. tableau IV).

Source : MNHN, Paris

(a) Relations entre la "transpiration" des cultures, l'intensité lumineuse et la fructification(.) .

| Intensité lumineuse (foot-candles) | 160 | | | 40 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Perte d'eau par unité de surface de mycélium juste avant la fructification (mg/cm2/heure) | ELEVEE 6,76 | MOYENNE 1,22 | FAIBLE 0,0035 | ELEVEE 6,50 | MOYENNE 1,22 | FAIBLE 0,0035 |

= PRODUCTION DE CARPOPHORES (avec ou sans chapeau) :

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nombre global de carpophores (ébauches incluses) | 14,6 ± 4,2 | 16 ± 3,8 | 6,2 ± 1,8 | 11,2 ± 2,2 | 4,2 ± 0,3 | 5 ± 0,9 |
| Nombre de carpophores avec chapeau | 3,2 ± 0,8 | 1,2 ± 0,7 | 0,8 ± 0,5 | 2 ± 0,4 | 0,4 ± 0,3 | 0 |
| Nombre de cultures | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

= COEFFICIENT D'ETIOLEMENT (rapport longueur totale/diamètre chapeau)

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| L/d | 1,4 ± 0,1 | 2,3 ± 0,1 | 6,6 ± 0,8 | 6,5 ± 0,6 | 30,8 ± 6,4 | - |
| Nombre de cultures | 8 | 11 | 13 | 7 | 12 | 14 |

(b) Influences de la lumière, de l'obscurité, du renouvellement et du non-renouvellement de l'atmosphère , sur le nombre moyen de carpophores "normaux" (avec chapeau) ou "anormaux" produits dans les diverses conditions expérimentales rapportées(.) .

| | Lumière 60 foot-candles | | Obscurité | |
|---|---|---|---|---|
| Atmosphère | Renouvelée | Non renouv. | Renouvelée | Non renouv. |
| Carpophores + chapeau | 5 ± 1,1 | 2 ± 0,4 | 0 | 0 |
| Tous carpophores (ébauches "anormales" incluses) | 15 ± 2,9 | 11,6 ± 1,0 | 2,2 ± 0,2 | 2 ± 0 |
| Nombre de cultures | 5 | 5 | 5 | 5 |

(.) Température : 20 ± 0,5 °C

Tableau IV. — Influence de divers facteurs («transpiration» des cultures, «aération», intensité lumineuse) sur la fructification de *Polyporus brumalis* (d'après PLUNKETT 1956).

## Rôle du $CO_2$

Un excès de $CO_2$ atmosphérique tend, fréquemment, à inhiber la fructification : il en est ainsi pour *Schizophyllum commune* (NIEDERPRUEM 1963) et, semble-t-il, pour de nombreuses Agaricales; par contre, *Polyporus brumalis* fructifie sous de fortes teneurs atmosphériques en $CO_2$ (PLUNKETT 1956). L'inhibition de la fructification par le gaz carbonique revêt une importance

Source : MNHN, Paris

particulière dans le cas du champignon cultivé *Agaricus bisporus*, espèce pour laquelle l'initiation de la fructification se produit préférentiellement pour une concentration en $CO_2$ atmosphérique variant de 0,03 à 0,1%; une concentration de 0,5 à 1% suffit pour inhiber la formation des primordiums (TSCHIERPE et SINDEN 1964, 1965). Les salles de culture doivent donc impérativement être soumises à une ventilation convenable.

## Rôle du facteur température

Le facteur «température» joue évidemment un rôle variable selon les espèces, mais également, pour une espèce donnée, selon les phases de développement. Les températures favorisant la croissance préalable du mycélium végétatif peuvent différer de celles permettant l'initiation fructifère (figure 12). Ainsi,

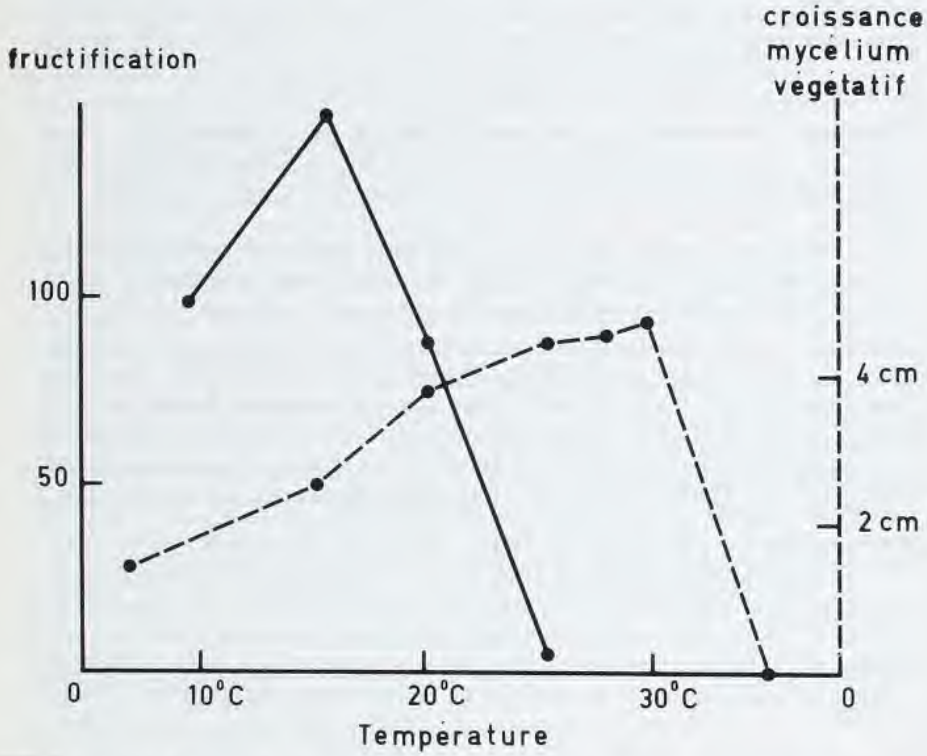



Fig. 12. — Influence de diverses températures sur la fructification et sur la croissance mycélienne de *Sphaerobolus stellatus*.

**Trait plein** : nombre moyen de glèbes éjectées après 38 jours à partir de cultures ayant séjourné initialement 2 semaines à l'obscurité totale à 20°C puis ayant ensuite été transférées à la lumière (éclairement ininterrompu : 1000 lux) à différentes températures (chaque point : moyenne pour 6 cultures). — **Trait discontinu** : croissance moyenne du mycélium depuis le point d'inoculation jusqu'au bord de la culture, après 35 jours (chaque point : moyenne pour 4 cultures). (d'après ALASOADURA 1963).

Source : MNHN, Paris

(a) Espèces dont les mycéliums forment généralement des carpophores "normaux" à l'obscurité

| | |
|---|---|
| Merulius lacrymans* | ZUR LIPPE et NESEMANN (1959) |
| Nia vibrissa | DOGUET (1968) |
| Pterula sp. | Mc LAUGHLIN et Mc LAUGHLIN (1972) |
| Polyporus cinnabarinus | LONG et HARSH (1918) |
| Polyporus farlowi | " |
| Trametes serialis | " |
| Psalliota bispora | KOCH (1958) |
| Schizophyllum commune* | PERKINS (1969) |

(b) Espèces dont les mycéliums ne forment généralement à l'obscurité que des ébauches de carpophores .

| | |
|---|---|
| Pistillaria setipes | KOSKE et PERRIN (1971) |
| Polyporus brumalis | PLUNKETT (1956) |
| Polystictus versicolor | KOCH (1958) |
| Agaricus arvensis | |
| Agaricus sylvicola | COUVY (1974 a) |
| Boletus rubinellus | Mc LAUGHLIN (1970) |
| Collybia velutipes | PLUNKETT (1953) |
| Coprinus lagopus* | MADELIN (1956 b) |
| Coprinus macrorhizus* | TSUSUE (1969) |
| Coprinus stercorarius | ROGERS (1973) |
| Flammula alnicola | DENYER (1960) |
| Flammula conissans | " |
| Lentinus lepideus | BULLER (1905) |
| Lentinus tigrinus | SCHWANTES et HAGEMANN (1965) |
| Lentinus tuber-regium | GALLEYMORE (1949) |
| Melanotus sp. | NEWMAN (1968) |
| Panus tigrinus | BOBBIT et CRANG (1974) |
| Pholiota aegerita | HUNI (1960) |
| Pleurotus ostreatus* | LOHWAG (1952), PASSEKER (1959), ZADRAZIL (1974) |
| Schizophyllum commune * | PERKINS (1969) |

(c) Espèces dont les mycéliums restent généralement stériles à l'obscurité .

| | |
|---|---|
| Cyathus stercoreus | LU (1965) |
| Favolus arcularius | KITAMOTO et coll. (1968) |
| = Polyporus arcularius | GIBSON et TRAPNELL (1957) |
| Lenzites saepiaria | SCHELD et PERRY (1971) |
| Lenzites trabea | MADHOSINGH (1967) |
| Merulius lacrymans* | ZUR LIPPE et NESEMANN (1959) |
| Pistillaria micans | KOSKE et PERRIN (1971) |
| Poria ambigua | ROBBINS et HERVEY (1960) |
| Sphaerobolus stellatus | FRIEDERICHSEN et ENGEL (1957,1960), ALASOADURA (1963) |
| Trametes extenuatus | MILLER et LIBERTA (1972) |
| Clitocybe tenuissima | BIGELOW (1970) |
| Coprinus congregatus | MANACHERE (1970) |
| Coprinus domesticus | CHAPMAN et FERGUS (1973) |
| Coprinus lagopus* | LU (1974) |
| Coprinus macrorhizus* | MORIMOTO et ODA (1973) |
| Panus fragilis | MILLER (1967) |
| Pleurotus ostreatus* | KOCH (1958), CAILLEUX et al.(1973),EGER et al.(1974) |
| Schizophyllum commune* | PERKINS (1969) |

* : espèces pouvant produire des carpophores relativement "normaux" à l'obscurité dans des conditions de milieu particulières, ou pour lesquelles les informations données par la bibliographie divergent (cf Texte, pour certains cas) .

Tableau V. — Classification de champignons Basidiomycètes selon l'aptitude fructifère de leurs mycéliums cultivés en l'absence de lumière (d'après DURAND 1975).

Source : MNHN, Paris

pour les trois *Agaricus* étudiés par COUVY (1973/74) - *A. bisporus; A. arvensis; A. sylvicola* - une «incubation» est nécessaire pour l'accomplissement de la phase végétative, la température optimale étant de 23-25°C; ensuite, un abaissement de 7 à 9°C est nécessaire pour permettre le déclenchement de la fructification.

## Rôle du facteur lumière

L'influence du facteur «lumière» mérite une attention particulière. Il est connu, de longue date, que des éclairements sont nécessaires au déclenchement de la fructification de nombreuses espèces de champignons «supérieurs» et «inférieurs» (BREFELD 1877 ; BULLER 1909 à 1934; cf. mise au point de MARSH, TAYLOR et BASSLER 1959). Les mycéliums végétatifs de telles espèces restent stériles s'ils sont conservés à l'obscurité ininterrompue (exemples, dans certaines conditions expérimentales, de *Coprinus congregatus*, MANACHERE 1961, et autres espèces, cf. tableau V). Par contre, on ne connaît pas d'exemples où la lumière soit indispensable à la croissance végétative du mycélium préalablement au déclenchement de la fructification. On peut néanmoins noter ici que, fréquemment, les mycéliums dont la croissance se produit à l'obscurité présentent en culture un aspect cotonneux, plus «aérien» qu'un mycélium de la même espèce développé sous éclairement ininterrompu. Il s'ensuit d'ailleurs qu'un mycélium dont la croissance, en boîte de Pétri, par exemple, progresse à partir d'un implant central, présente finalement, s'il est cultivé sous un régime photopériodique, des anneaux alternés correspondant aux phases de lumière et d'obscurité. Selon COUVY (1973/74), la lumière n'est pas indispensable à l'induction fructifère de plusieurs Psalliotes dont *Agaricus bisporus, A. arvensis, A. sylvicola*; ceci est également vrai pour d'autres espèces (Coprins divers, cf. BREFELD 1877; BULLER 1909-1934; *Lentinus tigrinus* : SCHWANTES 1968/69 . . . etc. . . cf. tableau V). Les mycéliums végétatifs de tels champignons produisent soit des carpophores normaux *(Agaricus bisporus)* soit des primordiums anormaux le plus souvent à pieds grêles et chapeaux réduits (divers Coprins; *Lentinus tigrinus*, cf. figure 13). La «photo-indifférence» du champignon cultivé a conduit, jusque dans un passé récent, à une généralisation hâtive et à attribuer cette caractéristique à l'ensemble des Agaricales, voire aux champignons de tous types . . ., alors que, actuellement, il a été confirmé que la lumière était indispensable non seulement au déclenchement de la fructification mais aussi à l'accomplissement de phases morphogénétiques ultérieures de nombreux champignons, et en particulier d'Agaricales (cf. tableau V). On peut noter ici que les besoins d'éclairement pour l'initiation fructifère varient éventuellement, pour une espèce donnée, selon certains autres facteurs de l'environnement : ainsi ZUR LIPPE et NESEMANN (1959) indiquent

Tableau VI. — Influence variable d'un éclairement d'une durée de 5 minutes (intensité = 100 foot-candles) sur la croissance du mycélium végétatif et sur la fructification de *Coprinus lagopus*, en fonction de l'âge des cultures (d'après MADELIN 1956 b).

Source : MNHN, Paris

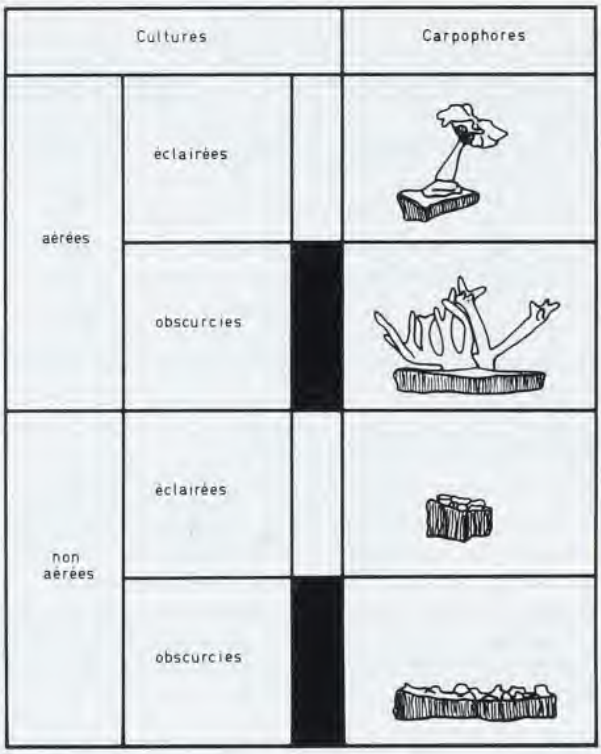



Fig. 13. – Fructification de *Lentinus tigrinus* sous diverses conditions d'aération et d'éclairement. (d'après SCHWANTES 1968).

| Age des cultures au moment de l'éclairement (jours) | Poids sec moyen (mg) | | |
|---|---|---|---|
| | Mycélium végétatif | Carpophores | Total |
| a) Pesées après 14 jours de développement (moyenne pour 4 cultures) | | | |
| 3j. | 80,2 | 0,2 | 80,4 |
| 6j. | 83,8 | 0,3 | 84,1 |
| 9j. | 63,8 | 18,4 | 82,2 |
| 11j. | 75,7 | 5,2 | 80,9 |
| Obscurité continue | 81,9 | 1,5 | 83,4 |
| Lumière continue | 42,7 | 28,4 | 71,1 |
| b) Pesées après 20 jours de développement (moyenne pour 4 cultures) | | | |
| 16j. | 50,9 | 24,8 | 75,7 |
| Obscurité continue | 57,2 | 21,2 | 78,4 |

**Température :** 25 °C

Source : MNHN, Paris

| Exposition de l'inoculum à la lumière (conditionnant la morphogenèse) | Diamètre des colonies en mm (moyenne pour 5 cultures) | | | Production de basidiospores 6 jours après l'inoculation |
|---|---|---|---|---|
| | 3° jour | 4° jour | 6° jour | |
| non | 29 | - | 57 | non |
| oui | 19 | - | 45 | oui |
| non | 29 | 39 | 46 | non |
| oui | 20 | 25 | 39 | oui |
| non | - | 43 | 63 | non |
| oui | - | 31 | 49 | oui |

Conditions expérimentales : -Température : 25 °C
-Eclairement : 200 à 280 foot-candles
-Chaque mesure du diamètre des colonies aux 3ème et 4ème jours de cultures implique un éclairement d'une durée de 1 heure .

Tableau VII. — Influence sur la croissance des cultures et sur la production des basidiospores de *Poria ambigua* : - de l'exposition à la lumière de l'inoculum (durée: 15 minutes); - d'éclairements ultérieurs (durée: 1 heure) après 3 ou (et) 4 jours de croissance. (d'après ROBBINS et HERVEY 1960).

que les cultures de *Merulius lacrymans* ne fructifient généralement pas à l'obscurité, mais peuvent le faire si une source convenable d'azote (dl α alanine) est incorporée au substrat nutritif. Dans le cas de *Coprinus lagopus* (MADELIN 1956 b, cf. tableau VI) la lumière n'est pas indispensable mais peut accélérer l'initiation fructifère. Un éclairement d'une durée de une heure est nécessaire et suffisante, sous certaines conditions expérimentales, non seulement au déclenchement de la fructification de *Poria ambigua* mais aussi à la morphogenèse complète des basidiocarpes (ROBBINS et HERVEY 1960, cf. tableau VII).

Des divers exemples ci-dessus, il ressort que le déclenchement de la fructification des Basidiomycètes, à partir d'un mycélium génétiquement apte à fructifier, est accompagné de variations métaboliques notables (dont on ignore encore si elles sont «causes» ou «conséquences» de l'initiation fructifère) et dépend, en outre, des variations des caractéristiques d'un ou plusieurs facteurs chimiques ou physiques de l'environnement. Dans certains cas, il est observé une antinomie entre la phase de croissance végétative et l'initiation de celle de reproduction : tout facteur favorisant l'une des phases tend à gêner l'accomplissement de l'autre. En fait, cet «équilibre» ne concerne pas seulement le domaine mycologique; d'autres exemples sont connus, aussi bien dans le règne végétal que dans le règne animal. Bien que trop simplificatrice et ne permettant pas d'expliquer actuellement toutes les données relatives aux facteurs de l'initiation fructifère, la théorie de HEIM, dite «de la souffrance» (cf. préface de REIJNDERS 1963) reste compatible avec certains faits. Selon HEIM, «. . . parmi

Source : MNHN, Paris

les facteurs en cause, . . . la souffrance exerce une action déterminante . . .». Il faut entendre par là «. . . l'appauvrissement nutritif du milieu, la résistance physique opposée par celui-ci, le contact avec un corps étranger, le choc mécanique ou chimique . . .». L'auteur en déduit «une explication à l'énigme que pose la fructification du champignon de couche sur la meule : le revêtement du gobetage sur celle-ci joue en effet un rôle cardinal dans la formation explosive des réceptacles, liée à des filaments mycéliens dont le cheminement végétatif stoppé par l'obstacle, mais exacerbé, aboutit à la naissance des primordiums aptes à faire éclater la cuirasse». On a vu ci-dessus que divers auteurs proposent actuellement une explication «microbiologique» au rôle de la terre de gobetage dans le déclenchement de la fructification du champignon de couche. Si cette dernière hypothèse venait à être définitivement démontrée, la théorie de la «souffrance» n'en serait pas à rejeter pour autant. Ainsi, elle lie le déclenchement de la fructification à un appauvrissement nutritif : or on a pu voir antérieurement que divers auteurs ont clairement établi que cette vue «intuitive» de HEIM correspond à une réalité. En outre, de nombreux physiologistes étudiant le problème de l'initiation fructifère des champignons supérieurs ont pu constater que les primordiums se développent souvent préférentiellement aux marges des thalles végétatifs en contact avec les parois des récipients de culture, là où le substrat est le moins épais, ou encore sur les fragments mycéliens ayant servi d'implants, donc les plus anciens. La théorie de HEIM est, dans une certaine mesure, une modernisation des théories de KLEBS (1898-1900) que rappelle COUVY (1973/74). Pour KLEBS, l'induction fructifère résulte de l'épuisement du substrat : selon cet auteur la reproduction devient toujours possible quand un vigoureux mycélium a épuisé ses éléments nutritifs ou est transféré sur un milieu pauvre; d'autre part, la formation de structures fructifères se produit quand le milieu nutritif devient différent de celui qui permet la croissance végétative. Divers exemples donnés ci-dessus, relatifs à l'influence de la composition de substrats nutritifs sur l'initiation fructifère, montrent que si, en première approximation, les théories de KLEBS sont compatibles avec certains faits, leur application devient souvent difficile lorsque l'expérimentation se fait plus précise, envisageant le rôle plus particulier d'un aliment, dans l'absolu, ou encore en interaction avec d'autres substances. En marge des observations usuelles, du type de celles essentiellement rapportées ci-dessus, restent encore les faits inattendus, que n'explique aucune des théories plus ou moins discutables évoquées : par exemple, comment concevoir qu'un mycélium d'origine monosperme, normalement stérile, soit capable de donner naissance à des carpophores parthénogénétiques . . . à l'issue d'une blessure? (*Schizophyllum commune*, RAPER et KRONGELB 1958).

## II. LA PHASE MORPHOGÉNÉTIQUE «SENSU STRICTO»

Cette phase, comme la phase précédente d'initiation fructifère, est sous la dépendance de facteurs endogènes et de divers facteurs de l'environnement. Les deux phases s'enchaînant, la progression de la seconde dépend directement de l'accomplissement normal de la première : il est donc évident qu'il sera

Source : MNHN, Paris

parfois difficile de distinguer leurs déterminismes respectifs. Nous examinerons d'abord les aspects nutritionnels et métaboliques du phénomène, ainsi que le rôle de divers facteurs de l'environnement. Nous envisagerons seulement ultérieurement certains mécanismes internes régularisant la morphogenèse des carpophores qui, relativement peu étudiés, nous paraissent néanmoins mériter une attention toute particulière.

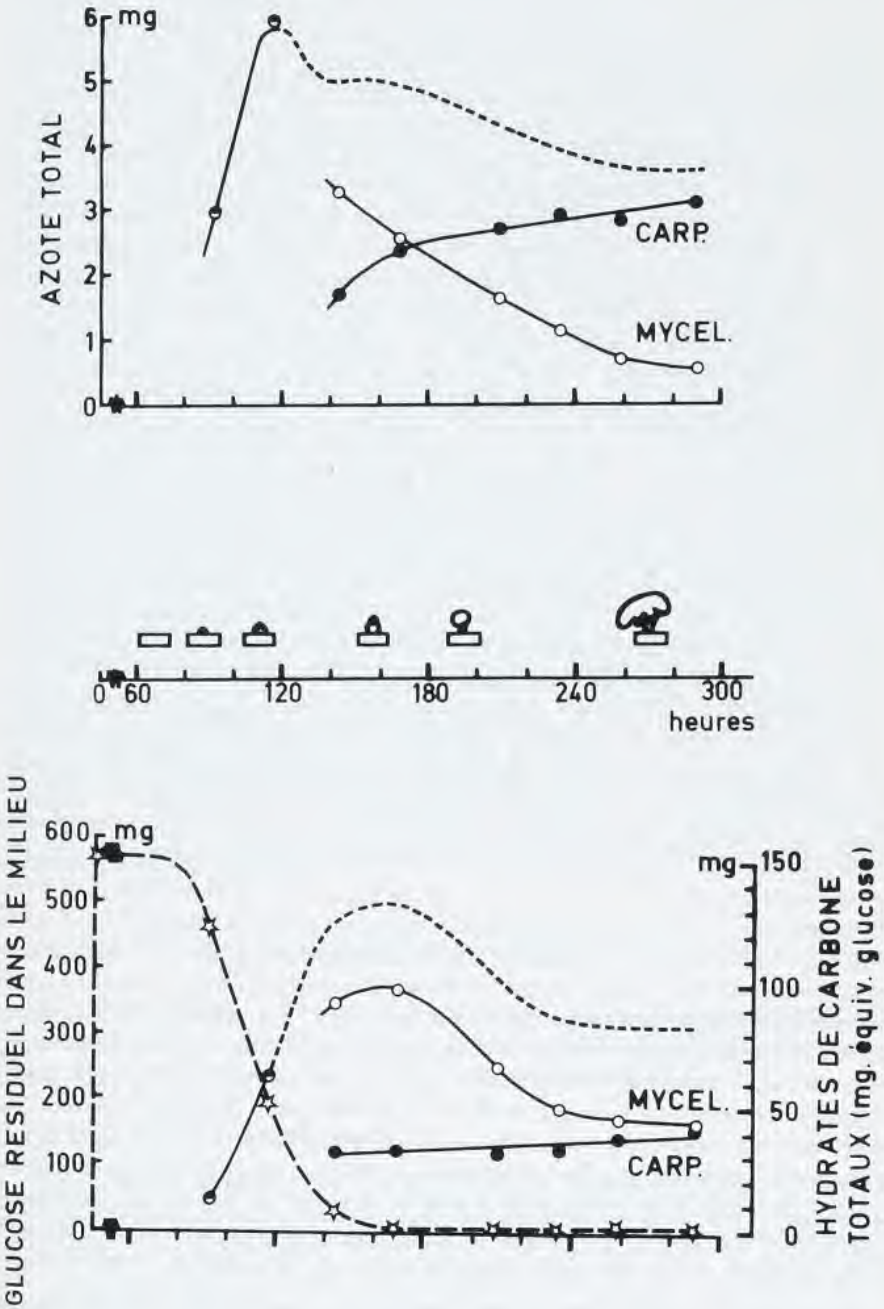
## ASPECTS NUTRITIONNELS ET MÉTABOLIQUES

Sur les plans «nutrition» et «métabolisme», nous nous en tiendrons essentiellement aux cas d'espèces déjà prises pour exemples quant aux déterminismes de l'induction fructifère. Pour ce qui concerne *Schizophyllum commune*, champignon étudié avec la meilleure précision, WESSELS (1965) a établi que, une fois les primordiums formés, le quotient respiratoire, supérieur à 1 jusque là, décroît et tend vers 1. La consommation d'oxygène reste élevée tant que le glucose exogène n'a pas été pratiquement totalement épuisé, puis chute alors brutalement jusqu'à un ralentissement pendant la maturation des carpophores (figure 10 et 14). Durant la croissance des primordiums, si du glucose exogène est indispensable, il n'en va pas de même pour une éventuelle source exogène d'azote : les besoins des primordiums peuvent être satisfaits par le biais des composés azotés du mycélium végétatif. L'essentiel du glucose est transformé en hydrates de carbone cellulaires, préférentiellement localisé au niveau des parois et, pour 80% environ, sous forme de glucanes. Ultérieurement, dans la phase finale de formation du chapeau, aucune source exogène de carbone ou d'azote n'est nécessaire; qui plus est, l'apport d'un aliment carboné exogène empêche alors la formation du chapeau. En fait, sur un thalle végétatif donné, tous les primordiums ne vont pas à leur terme. WESSELS a démontré que la formation du chapeau dépend d'un «approvisionnement» faible, mais continu, en glucose résultant de l'hydrolyse de R-glucanes (= glucanes solubles dans l'alcali) et ceci suite à la dégradation des parois cellulaires des primordiums avortés. Un mutant K-35 produisant des primordiums anormaux sans lamelles hyméniales est également caractérisé par une inaptitude à dégrader des glucanes. Certaines des observations de WESSELS dans le cas de *S. commune* paraissent avoir valeur générale. ROBERT (1977 b) observe que les primordiums de *Coprinus congregatus* se développent en carpophores mûrs aux dépens d'hydrates de carbone accumulés pendant la phase de croissance végétative, ceci tout particulièrement au cours de la phase morphogénétique terminale correspondant

Fig. 14. – Variations de l'azote total et des hydrates de carbone totaux dans les carpophores et le mycélium végétatif de *Schizophyllum commune*.

Les variations sont d'abord données pour l'ensemble des cultures, tant que la dissociation primordiums-mycélium végétatif n'est pas possible. Ces variations «globales» sont ensuite données à titre indicatif (courbes en pointillés) et sont obtenues en totalisant, pour chaque stade étudié, les valeurs correspondant aux carpophores et au mycélium végétatif, mesurées séparément. La courbe en «tirets» indique, en outre, les variations du glucose résiduel dans le milieu de culture. (d'après WESSELS 1965).

Source : MNHN, Paris




Source : MNHN, Paris

à l'allongement du pied et à la maturation des basidiospores; le même auteur note simultanément une chute temporaire du pH du milieu nutritif, qui pourrait être liée à une libération d'acides organiques (figure 11). Il est bien évident que l'évolution morphogénétique normale des primordiums dépend de corrélations physiologiques complexes entre le mycélium originel et l'ébauche de carpophore. On a pu montrer qu'elle est généralement fonction de corrélations entre les diverses parties du carpophore, en particulier entre le pied et le chapeau. Ainsi, la phase terminale du développement des carpophores de *C. congregatus* semble impliquer un transfert, du pied vers le chapeau en cours de maturation, d'hydrates de carbones et de protéines (ROBERT 1977a). La morphogenèse terminale de ce Coprin n'en est pas pour autant autonome, puisque des carpophores excisés, autrement dit séparés du mycélium originel, ne peuvent atteindre une taille normale, même quand l'excision est pratiquée dans les toutes dernières heures du développement (BRET 1977 a). De même, des carpophores excisés d'*Agaricus bisporus* n'atteignent pas une taille normale (TURNER 1977). Par contre, selon GOODAY (1974, 1975), la phase d'élongation terminale et rapide des basidiocarpes de *Coprinus cinereus* serait un processus endotrophique autonome. HAMMOND et NICHOLS (1976) constatent que du mannitol s'accumule dans les basidiocarpes d'*Agaricus bisporus*, en même temps que diminue la teneur en protéines solubles dans les tissus du stipe et du chapeau, d'une part, et que diminue aussi la teneur en tréhalose. Toutefois, en fin de développement, la quantité de mannitol diminue dans les carpophores et, selon les auteurs, celui-ci pourrait être transformé en un matériel indéterminé utilisé par le mycélium ou le basidiocarpe. On peut rappeler les observations de BORRISS (1934 a) selon lesquelles du glycogène, d'abord concentré dans les parties basses et périphériques des stipes de *Coprinus «lagopus»* se «déplacerait» progressivement vers les parties supérieures pour être finalement consommé lors de la formation des basidiospores. RAO et NIEDERPRUEM (1969) constatent la prédominance de tréhalose dans les stipes de *Coprinus «lagopus»* (sensu BULLER) et de glucose dans les chapeaux, mais n'indiquent pas d'éventuelles variations de ces composants en fonction des stades successifs de développement. Des observations en microscopie électronique ont permis à MATTHEWS et NIEDERPRUEM (1973) de noter au stade IV du développement des primordiums de cette même espèce (stade encore juvénile) l'accumulation de polysaccharides (vraisemblablement de nature glycogénique) dans les cellules basales plutôt que dans les cellules du pied ou celles destinées à donner le futur hymenium. Récemment, KITAMOTO et GRUEN (1976) ont montré que les plus grands carpophores produits par une culture de *Flammulina velutipes* utilisent, au cours de leur développement, non seulement le glucose résiduel du substrat, mais aussi, partiellement, les constituants cellulaires stockés dans le mycélium et dans de petits primordiums qui avortent : à partir de glycogène initialement accumulé, du tréhalose, du mannitol et de l'arabitol sont libérés et transférés dans les stipes et les pilei des carpophores qui se développent complétement.

En pratique, beaucoup reste actuellement pour comprendre le métabolisme de la fructification des champignons supérieurs, Agaricales et autres. Les quelques résultats rapportés ci-dessus, et concernant essentiellement le métabolisme

Source : MNHN, Paris

des hydrates de carbone en rapport avec la morphogenèse des basidiocarpes, en sont le témoignage. D'autres exemples auraient pu être cités. Ainsi, parmi les données récentes celles apportées par STEWART et MOORE (1974) qui ont établi que la $GDH_{NAD}$ (glutamate déshydrogénase liée au NAD) pourrait être une composante du métabolisme végétatif «normal» de *Coprinus «lagopus»* sensu Lewis (= *C. cinereus*); l'activité de la $GDH_{NADP}$ augmente parallèlement à certains changement importants dans le développement terminal du carpophore. Les auteurs montrent que l'activité de la $GDH_{NAD}$ est sujette à une «répression catabolitique» et à une dérépression par l'urée, l'activité de la $GDH_{NADP}$ étant, à l'inverse, sujette à une «dérépression catabolitique» et à une répression par l'urée. Il s'ensuit finalement, pour les auteurs, que la $GDH_{NAD}$ pourrait être l'enzyme normalement impliquée dans l'assimilation ammoniacale, la $GDH_{NADP}$ étant «réservée» à des fonctions spécifiques associées à des altérations métaboliques en relation avec des phénomènes accompagnant le développement terminal du basidiocarpe. Plus précisément, l'activité spécifique de la $GDH_{NADP}$ augmente de façon relativement plus importante dans les tissus du chapeau qu'au niveau du pied et des basidiospores où elle reste faible. Toutefois, une activité aussi importante de la $GDH_{NADP}$ n'a pas été retrouvée au niveau des chapeaux de nombreuses autres espèces de Basidiomycètes (MOORE et AL-GHARAWI 1976). Parmi les travaux histochimiques, mention peut être faite de ceux de KOMAGATA et OKUNISHI (1969) relatifs à *Coprinus kimurae* : les activités de la cytochrome-oxydase, de la succinique-déshydrogénase et des phosphatases acide et alcaline sont localisées aux zones de croissance active du carpophore, essentiellement la partie supérieure du pied et la marge du chapeau. Des observations analogues ont été faites dans le cas de *Polyporellus brumalis* (OKUNISHI et KOMAGATA 1975). D'autres travaux similaires conduits sur *Favolus arcularius* ont confirmé la localisation d'enzymes respiratoires (cytochrome-oxydase et succinique-déshydrogénase) au niveau des zones de croissance active que sont la partie terminale du pied, la masse du chapeau et les jeunes hyméniums (HORIKOSHI, KITAMOTO et KASAI 1973).

## FACTEURS PHYSIQUES DE L'ENVIRONNEMENT

Il est bien évident que les réactions métaboliques conduisant la fructification à son terme ne peuvent s'accomplir que dans certaines conditions d'environnement. Nous résumerons ci-après quelques données essentielles.

### Rôle du facteur humidité

Le facteur «humidité» est particulièrement important. Ainsi PLUNKETT (1956) a établi que les ébauches de carpophores de *Collybia (Flammulina) velutipes* ne se développent normalement que sous atmosphère très humide et sous éclairement convenable. Pratiquement, des besoins analogues ont été retrouvés dans le cas d'autres Agaricales, telles que *Pleurotus ostreatus* (CAILLEUX et al. 1974), *Pleurotus eryngii* et *Agrocybe aegerita* (CAILLEUX et DIOP 1974), encore qu'un excès d'eau atmosphérique puisse être préjudiciable

Source : MNHN, Paris

à une bonne fructification pour ces dernières espèces. Inversement, le développement des primordiums de *Polyporus brumalis* étudié par le même auteur (PLUNKETT) n'est normal que dans un air peu humide, mais également à la lumière (tableau IV). Dans le cas de cette dernière espèce, les effets d'une diminution d'éclairement et une transpiration faible en atmosphère humide s'additionnent et déterminent une augmentation relative de la longueur finale du pied et une suppression pratiquement totale du développement du chapeau. Des expériences du type de celles de PLUNKETT montrent que la morphogenèse normale des basidiocarpes est, en fait, fonction de l'interaction de divers facteurs de l'environnement.

## Rôle du $CO_2$

Les teneurs atmosphériques en gaz carbonique et en oxygène conditionnent également la morphogenèse des carpophores. Un excès de $CO_2$ perturbe le développement des primordiums de l'Agaric cultivé, d'une part en le retardant, d'autre part en déterminant un allongement excessif du pied et une réduction corrélative du chapeau, ces deux dernières anomalies étant fréquemment liées (cf. TSCHIERPE 1959 a et b, TURNER 1977). Des taux de $CO_2$ supérieurs à 0,40% entraînent un développement anormal des carpophores de *Pleurotus ostreatus, Pleurotus eryngii* et *Agrocybe aegerita* (cf. CAILLEUX et DIOP 1974). SCHWANTES (1968/1969) conclut de même à la nécessité d'une aération convenable pour l'obtention d'un développement normal du chapeau de *Lentinus tigrinus*. PLUNKETT (1956) constate que les réactions des ébauches de *Collybia velutipes* à un taux excessif de $CO_2$ se rapprochent de celles de l'Agaric cultivé et de *L. tigrinus* décrites ci-dessus; le même auteur établit que, par contre, un excès de $CO_2$ atmosphérique n'affecte pas l'accomplissement de la morphogenèse des primordiums de *Polyporus brumalis*.

## Rôle du facteur température

Relativement peu de travaux ont été consacrés à l'influence du facteur «température» sur la morphogenèse des basidiocarpes. BREFELD (1877) signale qu'une élévation de température conduit à un développement relativement plus normal des primordiums de *Coprinus stercorarius* développés sur des mycéliums maintenus à l'obscurité et qui, à température inférieure, auraient finalement présenté un pied grêle et un chapeau très réduit. Dans le cas de *Coprinus congregatus*, le développement des carpophores est possible dans une large gamme de température mais est fortement ralenti aux basses températures : 5 jours environ sont nécessaires à 25°C, 8 à 12 jours à 15°C, 15 à 22 jours à 10°C (ROBERT et MANACHERE 1971/73). En marge des Agaricales, on peut mentionner les observations d'ALASOADURA (1963) établissant que l'optimum de température pour un développement normal des carpophores du gastéromycète *Sphaerobolus stellatus* est inférieur (≈ 15°C) à celui permettant la meilleure croissance du mycélium végétatif (≈ 30°C) (cf. figure 12).

Source : MNHN, Paris

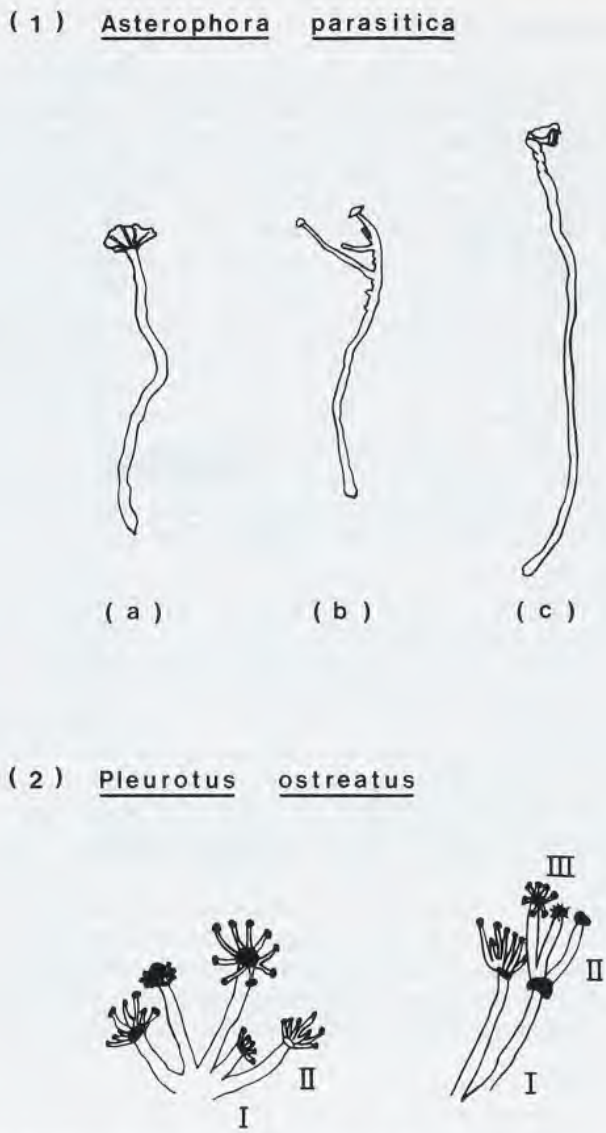



Fig. 15. — Ramifications anormales de carpophores de Basidiomycètes.

(1) *Asterophora parasitica* : comparaison de carpophores obtenus : a - sous régime photopériodique : fructification «normale». b et c - à l'obscurité ininterrompue : les stipes sont le plus souvent excessivement allongés et de diamètres relativement réduits par rapport aux carpophores «normaux» ; les chapeaux sont réduits ; en outre, le stipe porte souvent, en rejet, des primordiums également grêles. (d'après VIOT 1970).

(2) *Pleurotus ostreatus* : influence de concentrations excessives en $CO_2$ (1 à 2%) sur la morphogenèse des carpophores. Des ramifications de 1er, 2ème et 3ème ordres sont observables. (d'après ZADRAZIL 1974). **Pour mémoire** : on peut rappeler que certains carpophores de Basidiomycètes (g. *Marasmius*...) présentent «naturellement» des ramifications, chacune respectivement terminée par un chapeau. . .

Source : MNHN, Paris

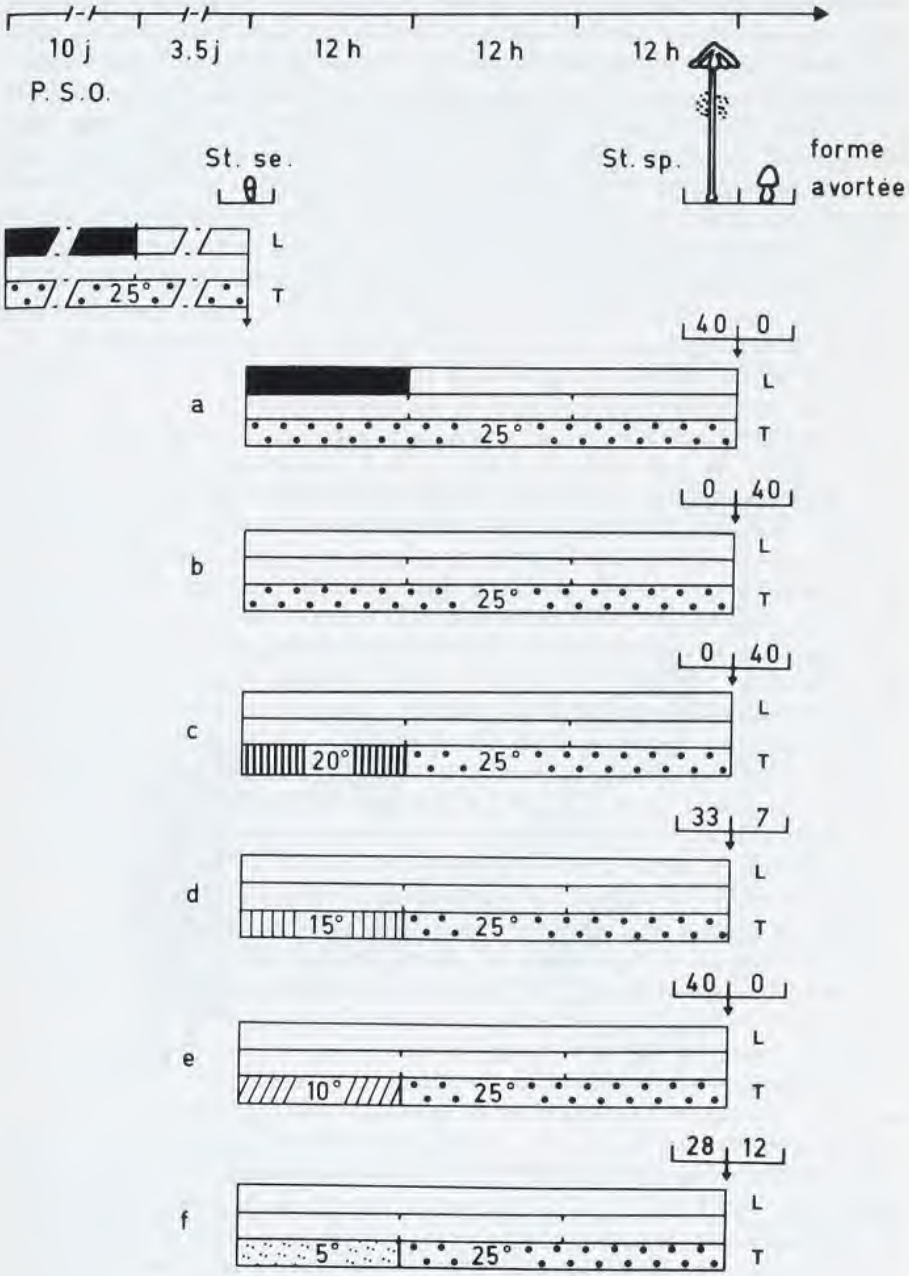
## Rôle du facteur lumière

Nous avons déjà évoqué ci-dessus, à plusieurs occasions, l'intervention de la lumière dans le développement des basidiocarpes de certains champignons. En fait, la photomorphogenèse des champignons de tous types a fait l'objet d'innombrables observations sans que le rôle de la lumière ait pour autant été finalement véritablement précisé (cf. BREFELD 1877; BULLER 1909 à 1934; mises au point de MARSH, TAYLOR et BASSLER 1959 et DURAND 1976). Rares sont les espèces dont on a pu établir que les mycéliums produisent des carpophores absolument normaux à l'obscurité. Le plus couramment, les mycéliums non éclairés soit demeurent stériles (cas de *Coprinus congregatus*, MANACHERE, 1961, 1970) soit produisent des primordiums à pieds grêles - de diamètre relativement faible et de taille fréquemment supérieure à la normale - terminés par des chapeaux très réduits (cas de *Coprinus lagopus*, BORRISS 1934 a et b; . . . etc.); il arrive que des carpophores «étiolés» en absence de lumière portent des ramifications latérales anormales qui apparaissent comme autant d'ébauches de basidiocarpes (*Lentinus tigrinus* SCHWANTES 1968/69; *Asterophora parasitica* VIOT 1970; cf. figures 13 et 15). Dans ces cas, seuls des éclairements de durées et d'intensités convenables, reçus à des stades particuliers du développement, peuvent permettre une morphogenèse normale. On notera que, dans le cas de *Pleurotus ostreatus*, un éclairement faible et un taux excessif de $CO_2$ (1 à 2 pour 100) ont un effet cumulatif et déterminent le développement de carpophores anormaux avec ramifications secondaires, voire tertiaires (ZADRAZIL 1974, cf. figure 15). Parmi les Agaricales photosensibles sur le plan du développement de leurs carpophores, *Coprinus congregatus*, étudié dans notre laboratoire, apparaît comme l'espèce la plus complexe. Cultivés à l'obscurité, à la température de 25 ± 1°C, les mycéliums ne produisent pas de primordiums. Par contre, placés sous régime photopériodique (exemple: alternance quotidienne de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité) à l'issue d'un préséjour à l'obscurité, ils portent des carpophores mûrs et sporulants, dits au «stade 0h» (cf. ci-dessus) généralement observables après 5 ou 6 jours, au début d'une photopériode, après une phase d'allongement spectaculaire du stipe. Il a été démontré (cf. MANACHERE 1967) que le développement complet d'un carpophore de *C. congregatus* est conditionné par l'accomplis-

Fig. 16. – Comparaison de l'influence d'une période d'obscurité et d'une période froide sur le développement ultérieur de primordiums de carpophores de *Coprinus congregatus* ayant atteint le stade de sensibilité à l'obscurité (st. se.).

Le stade de sensibilité a été obtenu ici, à partir de cultures maintenues à 25°C, après un pré-séjour à l'obscurité (P.S.O.) d'une durée de 10 jours, suivi d'un éclairement ininterrompu (250 lux) d'une durée de 3,5 jours; L: régime lumineux; T: régime thermique; chaque série, a, b, c, d, e, f, comportait 40 cultures. Les résultats concernant chaque série indiquent: à gauche, le nombre de cultures ayant porté des carpophores sporulant (st. sp.); à droite, le nombre de cultures n'ayant porté que des primordiums avortés. Les relevés ont été faits 5 jours après la fin du pré-séjour à l'obscurité, autrement dit 24 heures après la fin du traitement par l'obscurité (série a) ou 24 heures après la fin du traitement par le froid (séries b à f) (d'après ROBERT 1971).

Source : MNHN, Paris




Source : MNHN, Paris

sement de deux phases photostimulées, la première «longue» (quelques jours) et faisant suite immédiatement à la photo-initiation des primordiums, la seconde «brève» (quelques heures) séparées par une phase photo-inhibée également brève. La maturation des carpophores s'achève au cours d'une phase photo-indifférente (figure 4). Durant la première phase photo-stimulée, la lumière détermine la progression de la morphogenèse jusqu'à un stade dit de «sensibilité à l'obscurité», à partir duquel une prolongation d'éclairement empêche l'allongement des stipes et l'évolution des basides vers une sporogenèse normale. Ce stade de sensibilité à l'obscurité correspond au stade - 36h selon nos définitions antérieures. Un obscurcissement, d'une durée minimale de 4 heures à 25°C, est alors nécessaire pour que la morphogenèse se poursuive normalement. Il doit toutefois être suivi d'un nouvel éclairement, pour que s'accomplisse la seconde phase photo-stimulée, ce qui permet une maturation normale d'une majorité de basidiospores et leur projection en rapport avec un étalement du chapeau suivi d'une autolyse progressive de celui-ci. On notera encore qu'un arrêt prématuré de l'éclairement au cours de l'accomplissement de la première phase photo-stimulée conduit à la production de primordiums à pieds grêles et chapeaux réduits; un arrêt analogue au cours de la seconde phase photo-stimulée n'empêche pas l'allongement du pied mais ne permet pas l'ouverture du chapeau et réduit fortement la production des basidiospores. Il semble donc finalement que la lumière soit tout particulièrement nécessaire à un développement normal du chapeau, jusqu'à la sporogenèse, et que, quand les conditions d'éclairement deviennent défavorables, seul l'allongement du pied - mais non son épaississement - puisse se poursuivre. On a pu voir antérieurement que d'autres contraintes que l'obscurité (exemple: un excès de $CO_2$) peuvent déterminer des effets corrélatifs identiques sur les développements respectifs du pied et du chapeau. Nous reviendrons ci-après sur une des interprétations possibles de ces faits. La phase photo-inhibée du développement des primordiums de *C. congregatus* présente un intérêt particulier. On a établi que la fin de la période obscure permettant sa réalisation (autrement dit, le début de la photopériode qui permet l'accomplissement de la deuxième phase photo-stimulée) détermine le moment de la fin du développement du carpophore, 24 heures après environ. Or, de nombreuses espèces de Basidiomycètes et d'autres champignons sont connues pour achever leur développement et projeter leurs spores à heures fixes dans la nature. Il semble bien que les déterminismes de ces phénomènes «programmés» soient du type de celui reconnu dans le cas de notre Coprin : on connaît différents exemples de sporulations «diurnes» ou «nocturnes» déterminées par un passage «obscurité-lumière» antérieur, d'où il s'ensuit, éventuellement, un rythme circadien de projection de spores sexuées ou asexuées (cf. MANACHERE 1968b). Des mécanismes analogues pourraient intervenir dans la régulation de divers rythmes circadiens, tant dans le règne végétal que dans le règne animal (cf. BUNNING 1973). Toujours à propos de la phase photo-inhibée du développement des carpophores de *C. congregatus*, il a été établi que la période obscure de 12 heures, nécessaire et suffisante à son accomplissement, sous une température uniforme de 25°C, pouvait être «remplacée» par un abaissement thermique de 15°C, les cultures demeurent alors sous éclairement ininterrompu (ROBERT 1971, cf. figure 16). Ces observations sont à rapprocher

Source : MNHN, Paris

de celles de TSUSUÉ (1969) relatives à *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus*. Les mycéliums de ce champignon soumis dès repiquage à un éclairement continu de 500 lux environ et à la température de 30°C, produisent des primordiums, mais, si les cultures sont maintenues à 30°C, ces ébauches avortent sous une forme caractéristique à pied court et à chapeau ne s'ouvrant pas (forme semblable à celle des primordiums produits par les mycéliums de *Coprinus congregatus* sous éclairement continu, à des températures comprises entre 20 et 30°C). Par contre un séjour à 20°C d'une durée de 3 à 5 heures, au cours du 8ème jour de culture, des mycéliums ayant produit de telles ébauches, suffit à permettre l'achèvement de leur développement, 24 heures après l'abaissement de température inducteur. Des résultats analogues ont été obtenus par LU (1972) dans le cas de *Coprinus lagopus* : sous éclairement continu, à 35°C,

Fig. 17. — Réactions phototropiques des appareils reproducteurs de quelques champignons coprophiles.

A: *Sordaria fimicola* (vu en coupe). — B: *Dasyobolus immersus*. — C: *Pilobolus kleinii*. — D: *Coprinus fimetarius*: à gauche, jeune carpophore orienté par un phototropisme positif; à droite, carpophore mûr, au chapeau déployé et libérant ses basidiospores; un géotropisme négatif a commandé l'allongement terminal du stipe.

**Remarque** : tailles relatives des appareils reproducteurs non respectées, pour la commodité du dessin: (d'après INGOLD 1960).

Source : MNHN, Paris

la caryogamie ne peut se produire au niveau des cellules hyméniales de cette espèce, alors qu'elle est possible à 25°C. Toutefois, à 35°C, les primordiums atteignent un certain état de sensibilité après environ, 4, 5 jours d'illumination ininterrompue faisant suite à un préséjour à l'obscurité: à ce stade, une caryogamie normale peut être déterminée soit par un séjour d'une durée de 10 heures à l'obscurité, soit par une chute thermique de 10°C pendant 12 heures (passage temporaire des cultures de la température de 35°C à celle de 25°C). Dans tous les cas ci-dessus la question suivante reste posée: obscurcissements et abaissements de température déterminent-ils l'accomplissement de séquences physiologiques identiques ou différentes, bien qu'aboutissant finalement au même résultat, la maturation des basidiocarpes?

Après ceux de PLUNKETT (1956) déjà évoqués, ces résultats confirment que, dans l'avenir, les recherches sur la physiologie de la fructification devront de plus en plus prendre en considération les interactions des divers facteurs susceptibles d'intervenir.

| RADIATIONS | DUREE DE L'EXPOSITION | POIDS SEC MOYEN (mg) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Mycélium végétatif | Carpophores | Total |
| Rouge (660 nm) | 5 secondes | 71,6 | 1,0 | 72,6 |
| | 5 minutes | 67,2 | 2,4 | 69,6 |
| Orange (600 nm) | 5 secondes | 74,4 | 1,0 | 75,4 |
| | 5 minutes | 73,2 | 2,2 | 75,4 |
| Jaune (570 nm) | 5 secondes | 67,5 | 3,1 | 70,6 |
| | 5 minutes | 69,3 | 2,9 | 72,2 |
| Verte (520 nm) | 5 secondes | 70,8 | 2,3 | 73,1 |
| | 5 minutes | 64,2 | 12,0 | 76,2 |
| Bleu-verte (495 nm) | 5 secondes | 58,7 | 14,0 | 72,7 |
| | 5 minutes | 61,2 | 13,7 | 74,9 |
| Bleue (450 nm) | 5 secondes | 56,1 | 15,5 | 71,6 |
| lumière blanche | continue | 33,1 | 24,2 | 57,3 |

Conditions expérimentales :

- âge des cultures au moment de l'exposition à la lumière : 9 jours
- âge des cultures au moment des pesées (moyenne pour 4 cultures) : 14 jours
- l'énergie lumineuse des diverses radiations (en nanomètres, nm : le maximum de transmission des filtres utilisés) a été "égalisée" au niveau des mycéliums, à l'extérieur des récipients de cultures (ajustement à des valeurs équivalentes à 2,5 foot-candles sous un filtre bleu présentant un maximum de transmission à 450 nm) .

Tableau VIII. — Influence de différentes radiations lumineuses sur la croissance du mycélium végétatif et sur la fructification de *Coprinus lagopus* (d'après MADELIN 1956b).

Source : MNHN, Paris

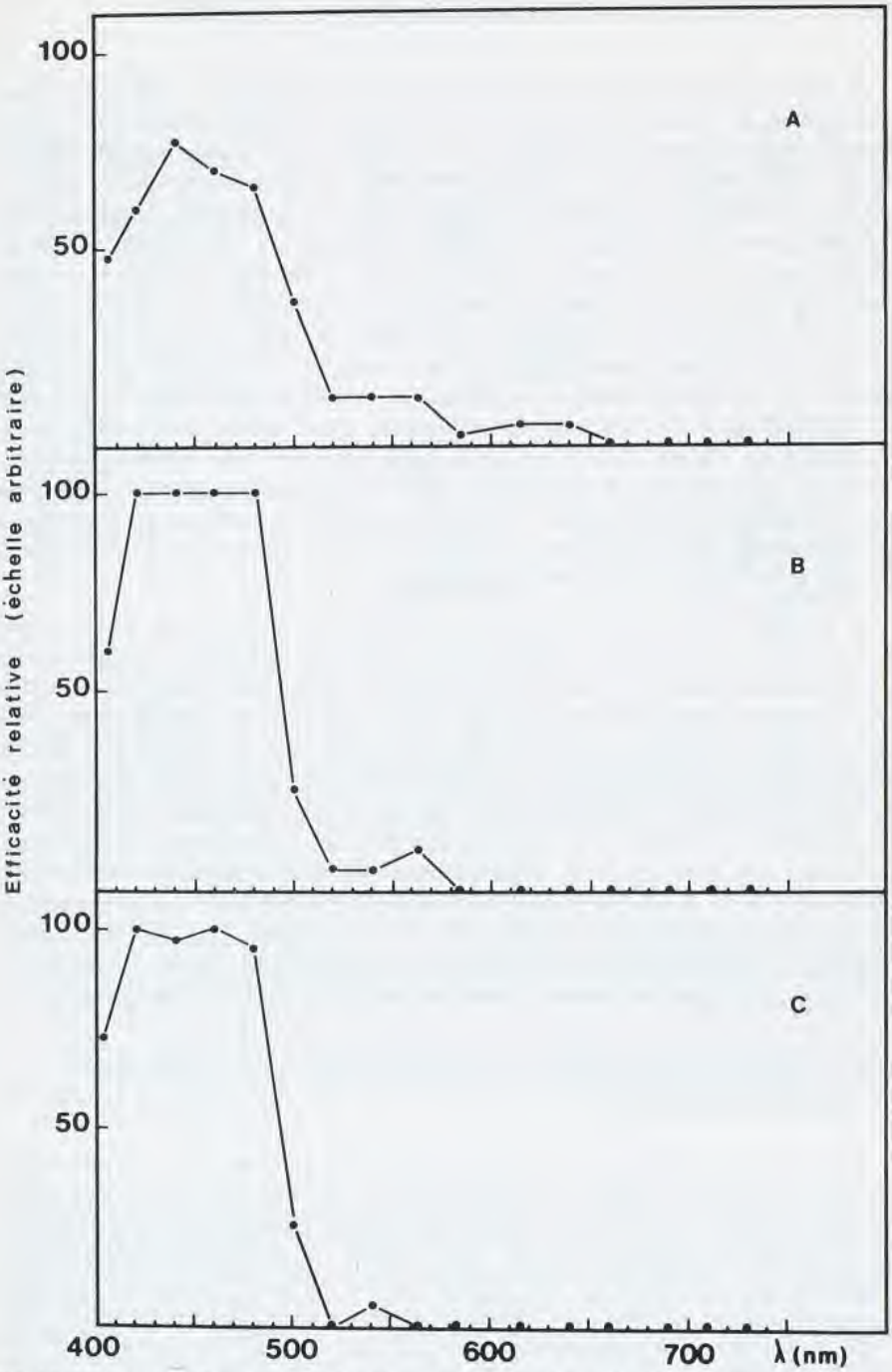



Fig. 18. — Spectres d'action de la lumière sur diverses phases de développement des carpophores de *Coprinus congregatus*.

A: Photoinduction de la formation des primordiums ($2.10^{-2}$ nE/cm$^2$/s). — B: Spectre d'action au cours de la phase photoinhibée du développement des primordiums ($2.10^{-2}$ nE/cm$^2$/s). — C: Spectre d'action au cours de la seconde phase photostimulée du développement des primordiums ($4.10^{-3}$ nE/cm$^2$/s). (d'après DURAND 1975).

Source : MNHN, Paris

Il n'est pas sans intérêt de noter ici que les carpophores de nombreux Basidiomycètes sont caractérisés par un phototropisme positif, du moins aux stades juvéniles (divers Coprins, BULLER 1909, 1930; *Coprinus «lagopus»* BORRISS 1934; *Polyporus brumalis* PLUNKETT 1961; *Coprinus congregatus* MANACHERE, résultats non publiés). Le phénomène caractérise, en fait, les appareils reproducteurs de champignons très divers (figure 17). Toutefois, en fin de développement (entre le stade - 24h et le stade - 12h dans le cas de *C. congregatus*), le carpophore devient exclusivement (sauf exception cf. *Pleurotus eryngii*, selon CAILLEUX et DIOP 1976) tributaire d'un géotropisme négatif: l'extrémité du stipe s'oriente alors selon la verticale. Ce tropisme permet finalement aux lamelles de diverses Agaricales et aux pores hyméniaux de Bolétales et Polyporales d'être orientés favorablement pour assurer aux basidiospores les meilleures chances d'être projetées puis dispersées dans l'atmosphère. Ces quelques données sont à rapprocher de celles rapportées ci-après concernant les corrélations «pied-chapeau» et leurs éventuelles variations au cours de la morphogenèse des carpophores, qu'ils soient photosensibles (tel *C. congregatus*) ou photo-indifférents (tel *Agaricus bisporus*).

Il doit être fait mention ici des très nombreux travaux ayant été conduits dans le but de déterminer l'influence des diverses radiations lumineuses sur les différentes étapes de la reproduction des champignons en général : induction fructifère, morphogenèse, sporogenèse, sporulation, mais aussi phototropisme (cf. MARSH, TAYLOR et BASSLER 1959; DURAND 1976). Dans le cas des Basidiomycètes, et en particulier des Agaricales, ce sont surtout les radiations de courtes longueurs d'onde visibles et du proche ultraviolet qui semblent impliquées (cf. tableau VIII). Dans le cas de *Coprinus congregatus*, les mêmes radiations qui permettent le déclenchement de la fructification ou l'accomplissement de la deuxième phase photo-stimulée, empêchent l'accomplissement de la phase photo-inhibée (DURAND 1975, cf. figure 18). Les hypothèses actuelles sur l'identité des photorécepteurs impliqués dans la reproduction des champignons en général ont été récemment analysées par DURAND (1976).

## MÉCANISMES «ENDOGENES» RÉGULARISANT LA FORMATION DES BASIDIOCARPES

Diverses des expériences évoquées ci-dessus montrent que, fréquemment, quand un facteur «freine» le développement du chapeau, il peut s'en suivre un «étiolement» du pied. En fait, des corrélations complexes régularisent les développements respectifs de ces deux parties distinctes des basidiocarpes. HAGIMOTO et KONISHI (1959), HAGIMOTO (1963 a et b) et GRUEN (1963) montrent qu'une substance de croissance élaborée au niveau des lamelles hyméniales contrôle vraisemblablement l'allongement du pied des carpophores de *Agaricus bisporus* : l'élimination unilatérale de lamelles d'un jeune carpophore conduit à une élongation préférentielle du pied du côté où les lamelles ont été conservées, et il s'ensuit une courbure (cf. figure 19). Des observations convergentes ont été faites dans les cas de *Flammulina velutipes* (GRUEN 1976) et de *Coprinus congregatus* (BRET 1977 b, cf. fig. 20). La ou les sub-

Source : MNHN, Paris

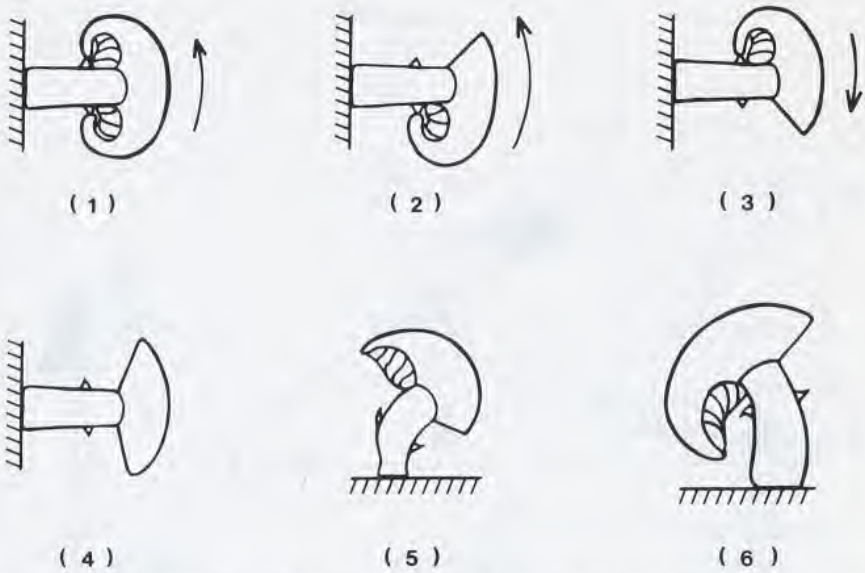



Fig. 19. — Influence des lamelles hyméniales sur la croissance du stipe des carpophores de *Agaricus bisporus*.

Les manipulations sont conduites sur des «tranches» de carpophores obtenues en réalisant deux sections rapprochées et parallèles à un plan de symétrie du champignon. Ces tranches restent reliées à un fragment du substrat nutritif et sont disposées de telle sorte que, initialement, le stipe soit horizontal (cas 1 à 4) ou vertical (cas 5 et 6). Les lamelles sont éliminées uni ou bilatéralement.

Les cas (1) à (5) correspondent à de jeunes primordiums (30 mm de hauteur au début de l'expérience). Dans ces cas, des courbures sont éventuellement observées (cf. flèches, cas 1, 2, 3 et états terminaux : cas 4, 5) qui témoignent d'une élongation différentielle des stipes : la «présence» des lamelles hyméniales «stimule» l'élongation des parties terminales des stipes. Le cas (6) correspond à un primordium plus âgé que dans les cas antérieurs (40 mm de hauteur au début de l'expérience) : la présence des lamelles hyméniales «inhibe» alors l'élongation ; cette inhibition pourrait s'expliquer par un excès d'une substance de croissance, normalement stimulatrice dans le cas de primordiums plus jeunes ; la nature de cette substance n'est pas connue actuellement. (d'après HAGIMOTO et KONISHI 1960).

stance (s) responsable (s) n'ont pas encore été identifiées. D'autres expériences ont permis de confirmer les interactions pieds-chapeaux dans le cas de *C. congregatus* : c'est ainsi que le chapeau d'un carpophore dont la phase photo-inhibée ne s'est pas accomplie - suite à un éclairement ininterrompu à compter du stade de sensibilité à l'obscurité - inhibe l'allongement du pied d'un carpophore dont cette même phase vient de s'accomplir et dont on remplace le chapeau propre . . . par cet autre (BRET 1977 c, cf. figure 22). Il pourrait sembler que les relations «pied-chapeau» soient à sens unique, les derniers «contrôlant» l'allongement des premiers. Il n'en est rien : les pieds permettent vraisemblablement le transfert de divers aliments utiles depuis le mycélium végétatif

Source : MNHN, Paris

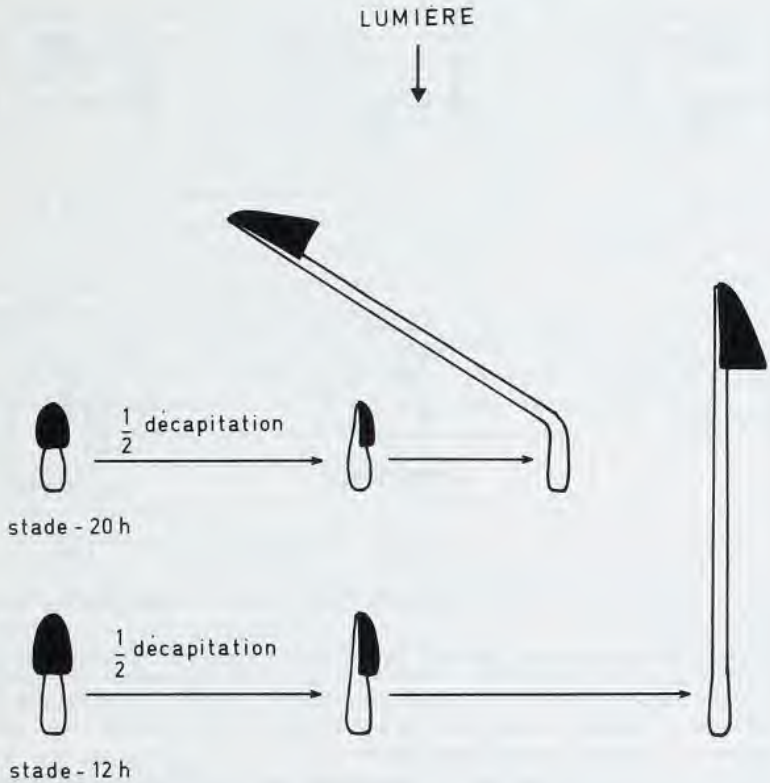


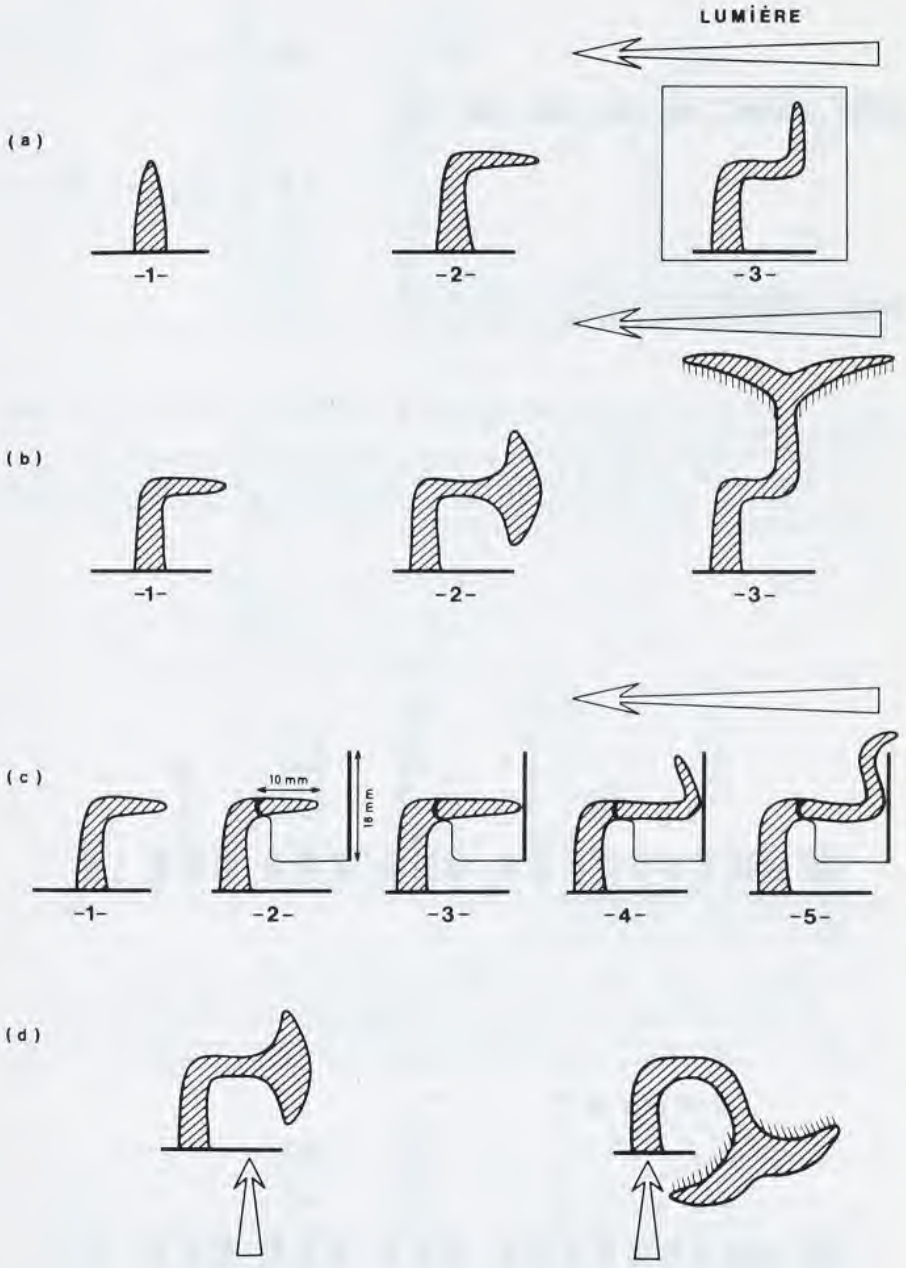

Fig. 20. — Enlèvement d'une moitié de chapeau de primordiums de *Coprinus congregatus* à divers stades : influence sur la morphogenèse terminale des carpophores (d'après BRET 1977 b).

Fig. 21. — Phototropisme, géotropisme et croissance des carpophores de *Polyporus brumalis*.

Des conditions expérimentales appropriées permettent d'obtenir à volonté des stipes sans chapeau, ou, au contraire des primordiums . . . produisant des «chapeaux». Les primordiums sans chapeaux sont caractérisés par un phototropisme positif (cas a - 1 et 2) mais, à l'obscurité, manifestent un géotropisme négatif (cas a - 3).

La présence d'un chapeau normal (cf. b) ou «artificiel» (cf. c) ferait ombre sur l'extrémité en croissance du stipe : le géotropisme négatif se manifeste. Un éclairement de cette zone de croissance empêche la manifestation du géotropisme négatif (cf. d). (d'après PLUNKETT 1961).

Source : MNHN, Paris




Source : MNHN, Paris

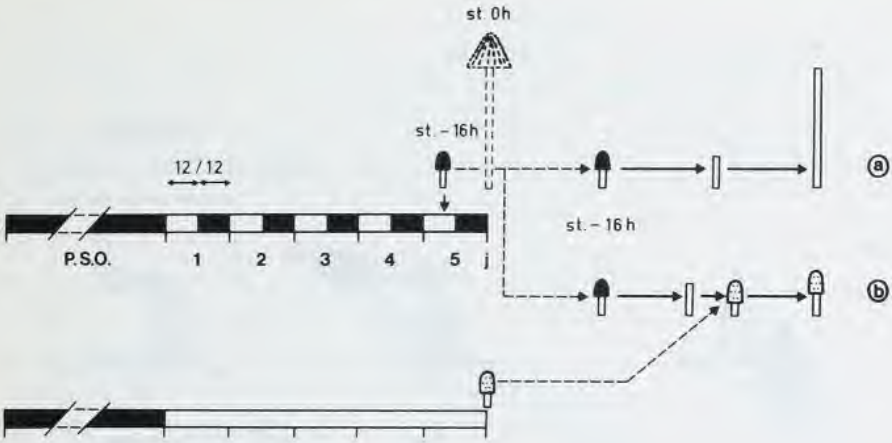
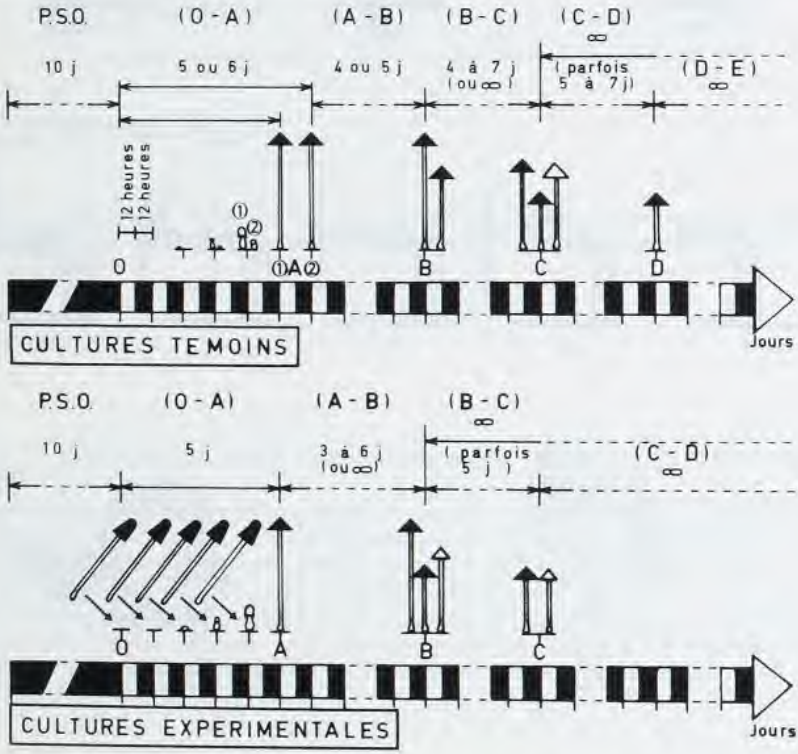



Fig. 22. — Influence du chapeau sur l'allongement des stipes de carpophores de *Coprinus congregatus*.
a: A partir du stade - 16h, les stipes peuvent s'allonger, même en l'absence du chapeau.
b: L'élongation de ces mêmes stipes est fortement inhibée s'ils sont recouverts d'un chapeau prélevé sur un primordium dont le développement a été bloqué par éclairement ininterrompu (cf. figure 4 h). (d'après BRET 1977 c).




Source : MNHN, Paris

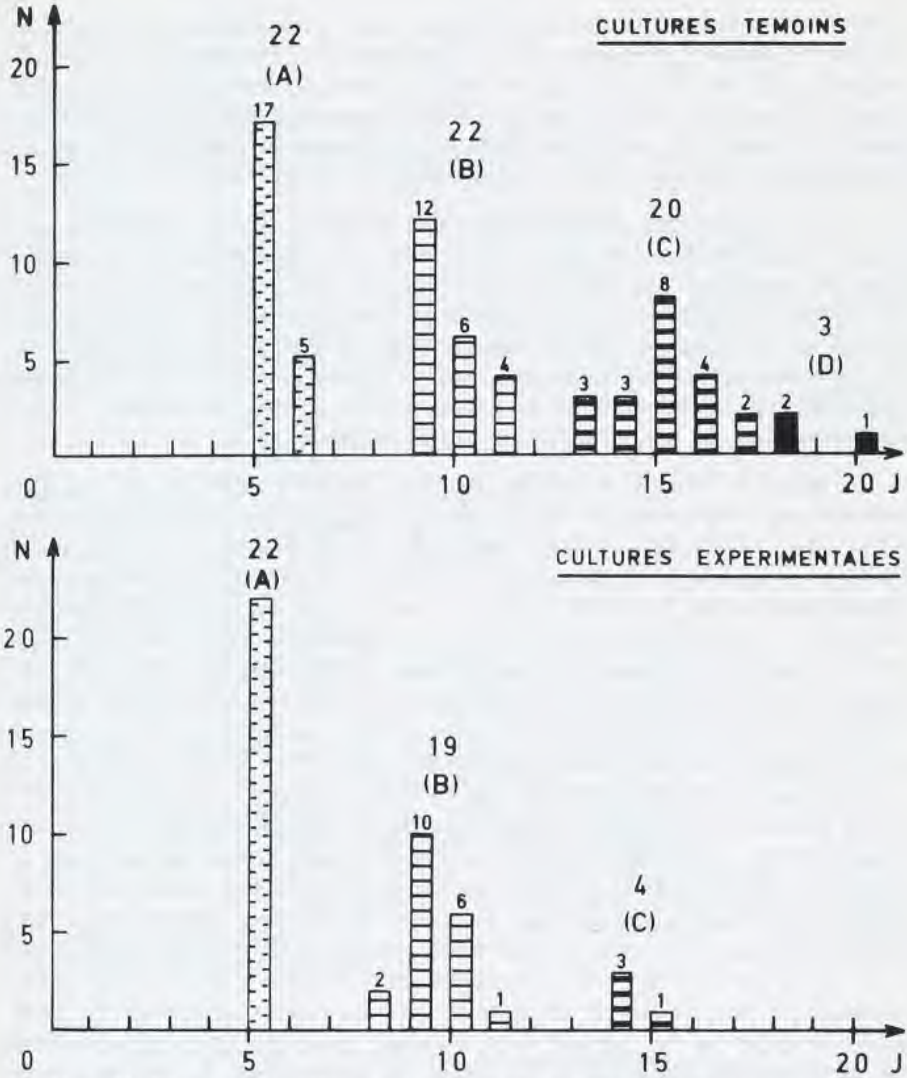



Fig. 24. — Modifications du rythme de fructification de *Coprinus congregatus* par le dépôt de carpophores mûrs exogènes à la surface des cultures (complément de la fig. 23).
- chacune des séries comporte 22 cultures; - N: nombre de cultures porteuses de carpophores au stade 0h au début de la photopériode du jour correspondant; - J: nombre de jours d'éclairement à l'issue de P.S.O. (d'après MANACHERE 1977).

Fig. 23. — Modifications du rythme de fructification de *Coprinus congregatus* par le dépôt de carpophores mûrs exogènes à la surface des cultures.
L'évolution de la fructification est représentée schématiquement. Après un pré-séjour à l'obscurité (P.S.O.) l'ensemble des cultures est soumis à un régime photopériodique. Dans le cas des cultures expérimentales, des carpophores exogènes proches de la maturité sont déposés à la surface des cultures au début de chacune des 5 premières photopériodes. (O-A): nombre de jours entre la fin du P.S.O. et l'observation des carpophores au stade 0h de la vague de fructification A. (A-B), (B-C)...: nombre de jours entre les débuts des photopériodes où sont observés des carpophores au stade 0h caractérisant les vagues de fructification successives (d'après MANACHERE 1977).

Source : MNHN, Paris

jusqu'aux diverses parties des basidiocarpes. Nous avons d'ailleurs déjà mentionné que ces derniers, dans le cas de *C. congregatus*, restent dépendants du thalle originel jusqu'aux dernières heures de leur développement. Il n'est pas sans intérêt de souligner ici que, dans le cas de *Flammulina velutipes*, l'effet stimulateur de l'élongation par l'intermédiaire d'une gélose nutritive (P.D.A. : potato dextrose agar) plutôt que par une gélose simple (GRUEN 1976).

Partant des diverses données rapportées ci-dessus, et par analogie avec ce qui est actuellement connu de l'intervention de «substances de croissance» dans les tropismes des végétaux supérieurs, il semble raisonnable de penser que les phototropismes positifs et géotropismes négatifs caractérisant certaines phases de la morphogenèse de basidiocarpes pourraient être déterminés par des substances de nature hormonale émises «asymétriquement» par des lamelles hyméniales des carpophores et déterminant les courbures des stipes par action sur l'élongation des cellules supérieures de ces derniers.

En outre, à l'échelle du thalle mycélien, d'autres corrélations complexes existent, qui témoignent de ce que celui-ci constitue une unité physiologique. Ainsi, une culture de *Coprinus congregatus*, maintenue à la température de 25°C, sous régime photopériodique quotidien «12h/12h», produit des carpophores mûrs selon un mode rythmé : 4 ou 5 jours séparent le plus souvent les débuts des photopériodes où peuvent être observés les carpophores au «stade 0h» des vagues successives de fructification (MANACHERE 1966, 1971; cf. figure 23). La «période» du rythme augmente quand la température diminue (MANACHERE et ROBERT 1972). Un rythme analogue est connu dans le cas de l'Agaric cultivé (COOKE et FLEGG 1962, 1965; FLEGG 1967), et du gastéromycète *Sphaerobolus stellatus* (FRIDERICHSEN et ENGEL 1975, 1960; ALASOADURA 1963). Dans le cas de ces derniers champignons, comme dans celui de *C. congregatus*, l'élimination de primordiums conduit à une accélération du développement des carpophores des vagues suivantes, l'accélération étant d'autant plus importante que les ébauches éliminées sont plus jeunes (tableau IX). Tout se passe donc comme si les ébauches d'une vague de fructification en cours d'accomplissement inhibaient d'autres primordiums, destinés, ou non, à donner les carpophores des vagues ultérieures. Le mécanisme d'inhibition est actuellement inconnu : on peut concevoir aussi bien un détournement trophique à l'avantage de primordiums dominants que l'émission de substances inhibitrices. Dans le cas de *C. congregatus*, il a été en outre constaté que l'élimination de carpophores, non plus à des stades primordiaux, mais au stade de maturité, peut éventuellement ralentir l'accomplissement des vagues ultérieures, voire l'empêcher si les carpophores au «stade 0h» de plusieurs vagues successives sont éliminés. Tout se passe donc comme si, une fois atteinte leur maturité, les carpophores apportaient ou restituaient au thalle originel, dans les 24 heures suivantes (MANACHERE 1976), une - ou des - substance (s) stimulant la fructification ultérieure. On peut trouver confirmation de cette hypothèse dans le fait que des applications de carpophores mûrs exogènes à la surface d'un thalle convenablement éclairé préalablement à l'accomplissement de la première vague de fructification conduit à une augmentation très importante de la production de carpophores correspondant

Source : MNHN, Paris

| Séries | | a (série témoin) | b | c | d | e |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Stades des primordiums prélevés pour empêcher tout développement jusqu'au stade 0 heure pendant la phase I | | Aucun prélèvement | - 12 h | - 24 h | - 36 h | - 48 h |
| Phase I (début de l'éclairement au début de la 19è photopériode inclus) . | Nombre moyen de VAGUES par culture | 3 | 3,05 | 4,20 | 6,10 | 8,05 |
| | Nombre moyen d'EBAUCHES PRELEVEES par culture (série a : nombre moyen de CARPOPHORES au stade 0 h. par culture) | 4,20 | 4,15 | 6,30 | 8,55 | 12,25 |
| Phase II (début de la 20è photopériode au début de la 35è photopériode inclus) . | Nombre moyen de VAGUES par culture | 1,55 | 2,05 | 2,50 | 2,95 | 3,10 |
| | Nombre moyen de CARPOPHORES au stade 0 h. par culture | 1,60 | 2,25 | 2,95 | 3,70 | 4,20 |

Tableau IX. — Variations du rythme de fructification de *Coprinus congregatus* en fonction de prélèvements répétés de primordiums à différents stades.

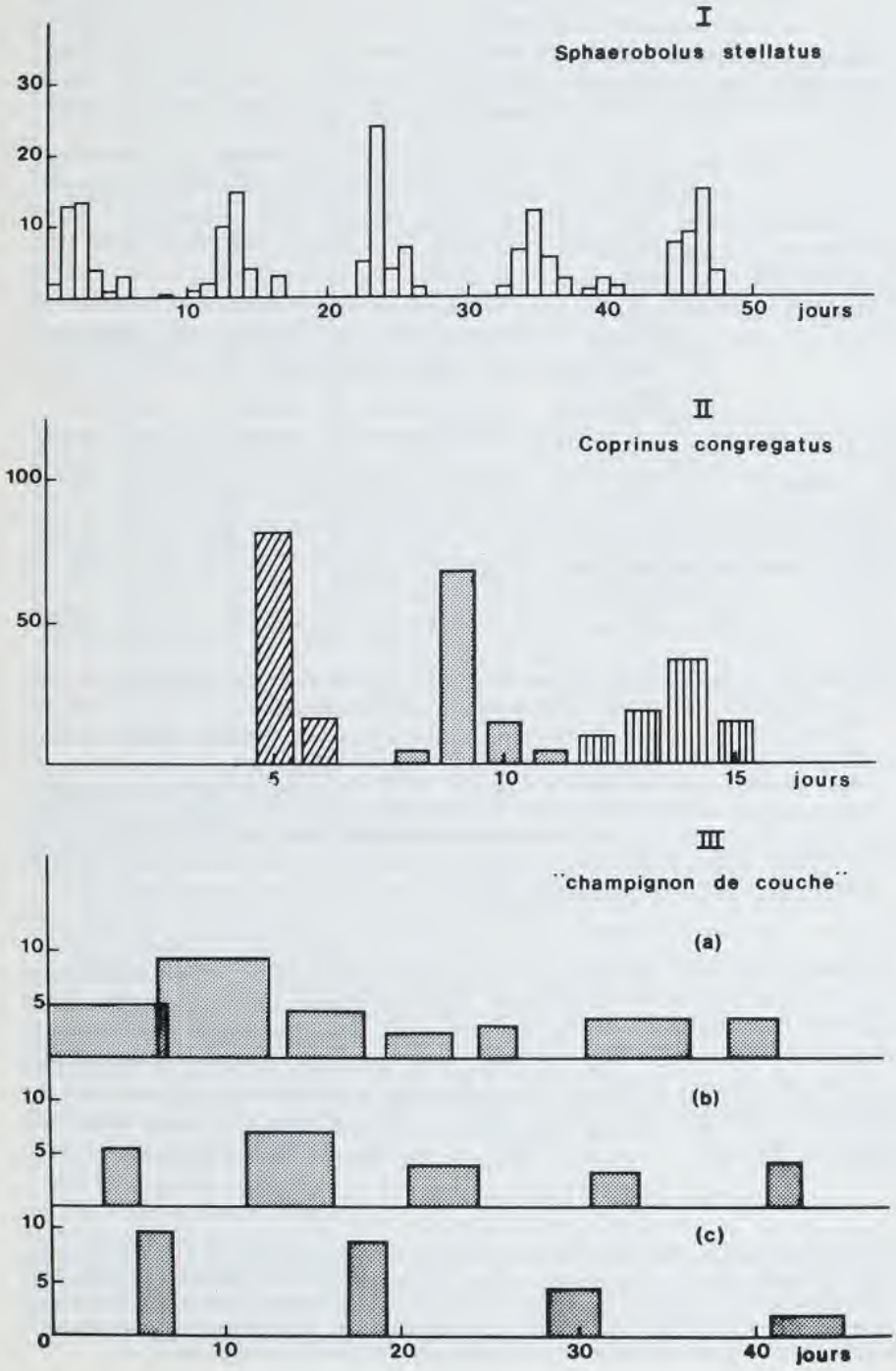
Chaque série comporte 20 cultures, éclairées quotidiennement 12 heures, pendant 35 jours, après un pré-séjour à l'obscurité d'une durée de 15 jours.

Pour chaque culture des **séries b, c, d et e**, TOUS LES PRIMORDIUMS ont été prélevés de manière à ce qu'aucune culture de ces séries ne porte de carpophores au **stade 0h** pendant la phase I. Les prélèvements ont été arrêtés de manière à ce que tous les primordiums viables puissent achever leur développement au cours de la période suivante (phase II). (d'après MANACHERE 1970).

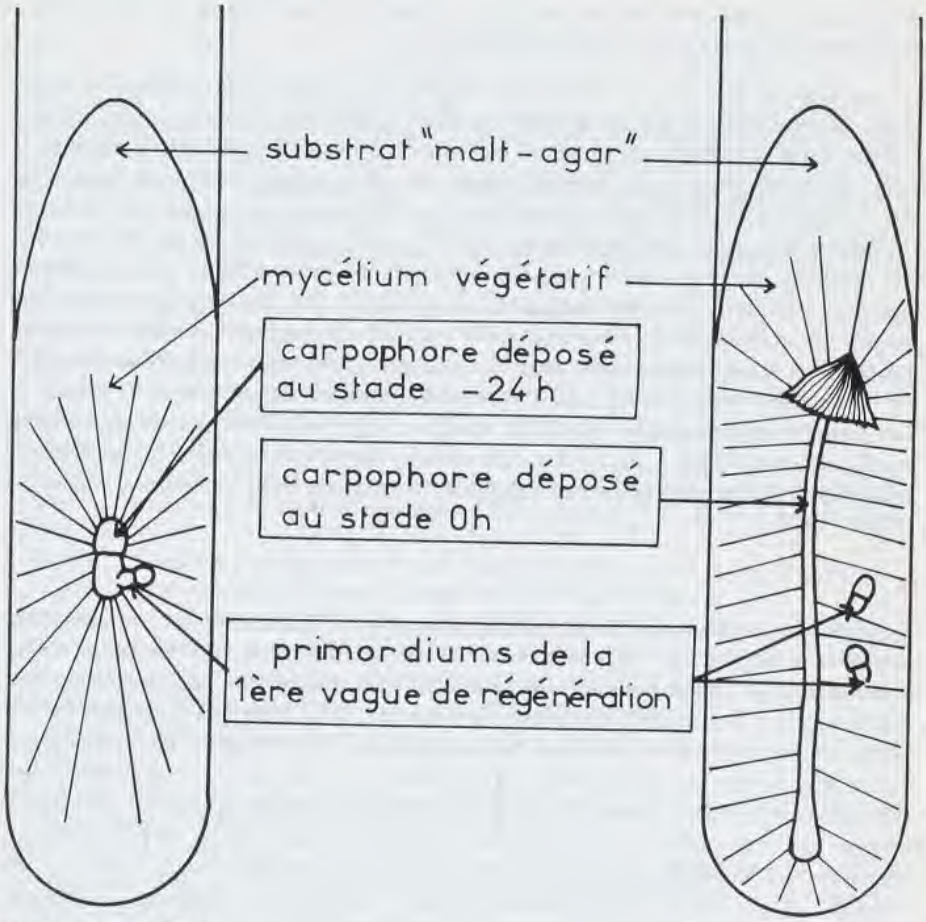
à cette vague, cette dernière étant, en outre, parfaitement synchronisée pour des cultures traitées simultanément (MANACHERE 1977, cf. figures 23 et 24) (1) On retiendra que la reconnaissance des mécanismes régularisant le rythme de production des basidiocarpes d'Agaricales présente un intérêt pratique particulier : la maîtrise de ce phénomène périodique est un souci constant pour les producteurs de l'Agaric cultivé, lesquels préfèrent une production abondante en semaine . . . ou à la veille des périodes de fête, et au contraire, bien

(1) Ces observations sont évidemment à rapprocher de celles de EGER (1965 a, b, 1968), déjà rapportées, et ayant permis de vérifier que, dans certaines conditions expérimentales, des fragments de carpophores déposés sur un mycélium végétatif peuvent «stimuler» la fructification à partir de celui-ci. La ou les substance (s) stimulatrice (s) ne seraient pas spécifiques (cf. ci-dessus, «**Phase de déclenchement - rôle des facteurs endogènes**»).

Source : MNHN, Paris




Source : MNHN, Paris




Régénération DIRECTE

Régénération INDIRECTE

Fig. 25. — Comparaison des rythmes de fructifications de trois Basidiomycètes supérieurs.
I *Sphaerobolus stellatus*: nombre de glèbes projetées quotidiennement par les carpophores mûrs d'une seule culture, éclairée de façon ininterrompue (1000 lux) à la température de 20°C (d'après ALASOADURA 1963).
II. *Coprinus congregatus*: pourcentage quotidien de cultures (20) présentant des carpophores mûrs (stade 0h), sous régime photopériodique (alternances quotidiennes de 12h de lumière et 12h d'obscurité après un pré-séjour à l'obscurité; niveau éclairement: 100 lux; température: 24°C). Trois vagues de fructification distinctes ont été observées pour la plupart des 20 cultures (d'après MANACHERE 1970).
III. *Agaricus bisporus*: nombre de carpophores par «pied carré» et par jour produits par une culture. a: cas où les primordiums sont prélevés à un stade juvénile («button»). b: cas où les primordiums sont prélevés à un stade plus avancé («cup»). c: cas où les carpophores atteignent leur maturité totale. (d'après COOKE et FLEGG 1965).
(reprise, avec modifications, de la figure 6 de l'article de INGOLD C.T. 1972 - *Sphaerobolus*: the story of a fungus. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 58: 179-195).

Fig. 26. — Représentation schématique de deux modes de régénération à partir de primordiums ou carpophores mûrs entiers de *Coprinus congregatus* (d'après BRET 1973).

Source : MNHN, Paris

évidemment, une production réduite pendant les week-ends et autres jours où la main-d'oeuvre n'est pas disponible!

Les carpophores de *C. congregatus* en place sur le mycélium originel exercent donc successivement sur ce dernier un effet «inhibiteur» puis un effet «stimulateur» selon qu'ils sont à un stade juvénile ou à l'état de maturité. Il est apparu utile de rechercher si des basidiocarpes de cette espèce présentent également des potentialités différentes quand on les utilise comme «implants» en vue de l'obtention de nouvelles cultures. BRET (1973, 1975; cf. figure 26) a confirmé qu'il en est bien ainsi : quand on dépose des primordiums d'âge différent sur des substrats nutritifs vierges, l'on constate que les premières ébauches viables se développent essentiellement sur les carpophores-implants (régénération directe) dans les cas où ceux-ci n'ont pas atteint leur maturité au moment de leur prélèvement; inversement, lorsque ces derniers sont prélevés à maturité, les premiers primordiums régénérés naissent principalement sur les mycéliums végétatifs développés à partir des carpophores implants (régénération indirecte). Des observations analogues ont été faites dans le cas de *Asterophora parasitica* (VIOT 1974).

L'analyse ci-dessus avait pour objet de rappeler l'essentiel des connaissances actuelles relatives aux déterminismes de la fructification des Basidiomycètes supérieurs. Un choix délibérément limité d'exemples a été fait, parmi un très grand nombre de données anciennes et récentes. Il est clair que les points de vue selon lesquels la morphogenèse des carpophores peut être considérée varient beaucoup. Outre les «questions» déjà posées - et auxquelles relativement peu de réponses ont été apportées jusqu'à présent - bien d'autres n'ont pas même encore été envisagées : par exemple, celles des «différences physiologiques» opposant les développements angiocarpiques et gymnocarpiques. Il est actuellement certain qu'une connaissance globale des divers problèmes considérés (ou non) au cours de cette synthèse est indispensable pour mieux comprendre chaque résultat particulier et pouvoir l'intégrer dans la physiologie générale du développement des basidiocarpes. Cette dernière n'est d'ailleurs aucunement autonome et s'insère elle-même, de plus en plus harmonieusement, non seulement dans le cadre de la physiologie des champignons, tous groupes confondus, mais, bien plus largement encore, dans celui de la Physiologie Végétale, sans exclusive.

Cette mise au point résulte du développement d'une communication intitulée «Formation of Basidiocarps» et présentée à Vienne (Autriche), en mars 1977, au cours du 4ème Symposium de la «Federation of European Microbiological Societies» (F.E.M.S.). Le texte, en langue anglaise, de cet exposé est paru dans l'ouvrage «Biotechnology and Fungal Differentiation» édité par J. MEYRATH et J.D. BU'LOCK, *Academic Press, Londres, New York, San Francisco* (1977).

Source : MNHN, Paris

## REFERENCES

ALASOADURA S.O., 1963 — Fruiting in *Sphaerobolus* with special reference to light. *Ann. Bot.* (G.B.) 27 : 123-145.

ASCHAN K., 1954 — The production of fruit-bodies in *Collybia velutipes*. I. Influence of different culture conditions. *Physiol. Plant.* 7 : 571-591.

BIGELOW H.E., 1970 — Basidiocarp production by *Clitocybe tenuissima* in culture. *Mycologia* 62 : 203-205.

BILLE-HANSEN E., 1953 a — Fructification of a coprophilous *Coprinus* on synthetic medium. *Physiol. Plant.* 6 : 523-528.

BILLE-HANSEN E., 1953 b — Fructification of three coprophilous species of *Coprinus* using glucose, sucrose and maltose as carbon source. *Bot. Tidsskrift* 50 : 81-85.

BOBBITT T.F. et CRANG R.E., 1974 — Light effects on fruiting in *Panus tigrinus* var. *tigrinus*. *Canad. J. Bot.* 52 : 255-257.

BOISSON C., 1973 — De la basidiospore au rhizomorphe, déterminisme de l'agrégation chez le Basidiomycète *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim ex Pat. Thèse Sciences, Paris-Sud (Orsay).

BONNER J.T., KANE K.K. et LEVEY R.H., 1956 — Studies on the mechanics of growth in the common mushroom, *Agaricus campestris*. *Mycologia* 48 : 13-19.

BORRISS H., 1934 a — Beiträge zur Wachstums und Entwicklungsphysiologie der Fruchtkörper von *Coprinus lagopus*. *Planta* 22 : 28-69.

BORRISS H., 1934 b — Ueber den Einfluss äusserer Faktoren auf Wachstum und Entwicklung der Fruchtkörper von *Coprinus lagopus*. *Planta* 22 : 644-684.

BREFELD O., 1877 — Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, III. *Arthur Felix, Leipzig.*

BREFELD O., 1899 — Untersuchungen aus dem Gessamtgebiete der Mycologie VIII, Basidiomyceten III, *Arthur Felix, Leipzig.*

BRET J.J., 1973 — Variations du potentiel de régénération des carpophores de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. en fonction de leur stade de développement. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 276 : 1847-1850.

BRET J.P., 1975 — Étude comparative des potentiels de régénération des carpophores de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. développés dans différentes conditions de température ou d'éclairement. *Biologia Plantarum* 17 : 347-351.

BRET J.P., 1977 a — Respective role of cap and mycelium on stipe elongation of *Coprinus congregatus*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 68 : 363-369.

BRET J.P., 1977 b — Contrôle de l'élongation du stipe par le chapeau dans les carpophores de *Coprinus congregatus*. *C. R. 102e Congrès National Soc. Savantes*, Limoges, avril 1977 : 1, 273-284.

BRET J.P., 1977 c — Release of an inhibiting stipe elongation substance by continuous light grown fruit body caps of *Coprinus congregatus*. *Abstracts Second International Mycological Congress*, Tampa (U.S.A.), 27 août - 3 sept. 1977 : p. 67.

BRETON A., 1975 — Morphogenèse descriptive et expérimentale des corémies du genre *Doratomyces corda* (Fungi Imperfecti). Thèse Sciences, Clermont-Ferrand.

BULLER A.H.R., 1905 — The reaction of fruit bodies of *Lentinus lepideus* to external stimuli. *Ann. Bot.* (G.B.) 19 : 427-438.

BULLER A.H.R., 1909 — Researches on fungi, vol. I; 1922 - ibid, vol. II; 1924 - ibid., vol. III; 1931 - ibid., vol. IV; 1933 - ibid., vol. V.; 1934 - ibid., vol. VI - *Nouv. Edit.* (1958) *Hafner Publishing Co, New York.*

Source : MNHN, Paris

BUNNING E., 1973 — The physiological clock. Circadian rythms and biological chronometry. 3ème édition - *The English Universities Press Ltd, Londres et Springer-Verlag New York, Heidelberg et Berlin.*

BURNETT J.H., 1968 — Fundamentals of mycology. *Edward Arnold (Publishers) Ltd, Londres.*

CAILLEUX R. et DIOP A., 1974 (paru 1976) — Recherches expérimentales sur les conditions d'ambiance requises pour la fructification du *Pleurotus eryngii* et de l'*Agrocybe aegerita. Mushroom Science* 9 : 607-619.

CAILLEUX R. et DIOP A., 1976 — Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex D.C.) Quélet. *Rev. Mycol.* (Fr.) 40 : 365-388.

CAILLEUX R., DIOP A. et MACAYA-LIZANO A., 1973 — Quelques variations du *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet précisées par la culture. *C. R. Acad Agri.* 59 : 971-976.

CAILLEUX R., DIOP A. et MACAYA-LIZANO A., 1974 (paru 1976) — *Pleurotus ostreatus* et formes affines : comportement cultural, influence des sources carbonées et azotées sur le développement mycélien et la fructification. *Mushroom Science* 9 : 595-606.

CHAPMAN E.S. et FERGUS C.L., 1973 — An investigation on the effects of light on basidiocarp formation of *Coprinus domesticus. Mycopathol. Mycol. appl.* 51 : 315-326.

CHOW C.H., 1934 — Contribution à l'étude du développement des Coprins. *Le Botaniste* 26 : 89-232.

COOKE D. et FLEGG P.B., 1962 — The relation between yield of the cultivated mushroom and stage of maturity at picking. *J. hort. Sci.* 37 : 167-174.

COOKE D. et FLEGG P.B., 1965 — The effect of stage of maturity at picking on the flushing of crops of the cultivated mushroom. *J. hort. Sci.* 40 : 207-212.

COUVY J., 1972 — Étude de l'induction de la fructification chez *Agaricus* (Lange) Sing. (= *Psalliota hortensis* Cke) : action du glucose. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 274 : 2475-2477.

COUVY J., 1973 (1974) — Les facteurs de fructification des Agaricales et plus particulièrement de l'*Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Le Botaniste* 56 : 103-128.

COUVY J., 1974 a — La fructification d'*Agaricus arvensis* Fries Schaeffer en culture pure. Action de la température et de la lumière. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 90 : 81-88.

COUVY J., 1974 b (paru 1976) — La fructification d'*Agaricus bisporus* en milieu aseptique : un modèle expérimental pour l'étude des substances impliquées dans l'initiation fructifère. *Mushroom Science* 9 : 157-164.

DENYER W.G.B., 1960 — Cultural studies of *Flammula alnicola* (Fr.) Kummer and *Flammula conissans* (Fr.) Gillet. *Canad. J. Bot.* 38 : 909-920.

DOGUET G., 1968 — *Nia vibrissa* Moore et Meyers, Gastéromycète marin. I. Conditions générales de formation des carpophores en culture. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 84 : 343-351.

DURAND R., 1975 — Photomorphogenèse d'un Basidiomycète, *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. : influence de variations quantitatives et qualitatives de la lumière sur les phases successives de développement des carpophores ; analyse du phénomène de photoréception. Thèse Doctorat 3ème cycle, Univ. Lyon I.

DURAND R., 1976 — Influence des radiations lumineuses sur les processus de reproduction des champignons ; hypothèses sur l'identité des photorécepteurs. Revue bibliographique. *Mycopathologia* 60 : 3-16.

EGER G., 1961 — Untersuchungen über die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lge. *Arch. Mikrobiol.* 39 : 313-334.

EGER G., 1965 a — Untersuchungen über die Bildung und Regeneration von Fruchtkörpern bei Hutpilzen. I. *Pleurotus «Florida». Arch. Mikrobiol.* 50 : 343-356.

Source : MNHN, Paris

EGER G., 1965 b — Untersuchungen über die Bildung und Regeneration von Fruchtkörpern bei Hutpilzen. III. *Flammulina velutipes* Curt. ex Fr. und *Agaricus bisporus* (Lge) Sing. *Arch. Mikrobiol.* 52 : 282-290.

EGER G., 1968 — Untersuchungen zur Stimulation der Fruchtkörperbildung bei einem *Pleurotus* (aus) Florida. *Theor. appl. Genet.* (All.) 38 : 23-27.

EGER G., 1972 — Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus. Mushroom Science* 8 : 719-725.

EGER G., GOTTWALD H.D. et VON NETZER U., 1974 (paru 1976) — The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus. Mushroom Science* 9 : 575-583.

ESSER K., 1977 — Genetic aspects of differenciation in fungi. Vienna Symposium of the Federation of European Microbiological Societies. March 28 - April 1, 1977.

ESSER K. et STAHL U., 1975 — A genetic correlation between dikaryotic and monokaryotic fruiting in Basidiomycetes. *I. Intersect. Congr. Intern. Assoc. Microbiol. Soc. Japon* 1974, 1 : 294-300.

FLEGG P.B., 1967 — The effect of harvesting procedures on yield, stage of maturity at harvest and number of pickings of cultivated mushroom. *J. hort. Sci.* 42 : 139-148.

FRIEDERICHSEN I. et ENGEL H., 1957 — Beiträge zur Kenntnis des Abschussrhythmus und des Farbstoffs von *Sphaerobolus stellatus* (Thode) Pers. *Planta* 49 : 578-587.

FRIEDERICHSEN I. et ENGEL H., 1960 — Der Abschussrhythmus des Fruchtkörper von *Sphaerobolus stellatus* (Thode) Pers. *Planta* 55 : 313-326.

GALLEYMORE H.B., 1949 — The development of fructification of *Lentinus tuber-regium* Fr. in culture. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 32 : 315-317.

GIBSON I.A.S. et TRAPNELL J., 1957 — Sporophore production by *Polyporus arcularius* Batch ex Fr. in culture. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 40 : 213-220.

GOODAY G.W., 1974 — Control of development of excised fruit-bodies and stipes of *Coprinus cinereus. Trans Brit. mycol. Soc.* 62 : 391-399.

GOODAY G.W., 1975 — The control of differentiation in fruit-bodies of *Coprinus cinereus. Rept. Tottori Mycol. Inst.* (Jap.) 12 : 151-160.

GOUJON M., 1971 — Étude physiologique de la sclérogenèse chez le *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi. Thèse Sciences, Orsay.

GRUEN H.E., 1963 — Endogenous regulation in carpophores of *Agaricus bisporus. Plant Physiol.* (U.S.A.) 38 : 652-666.

GRUEN H.E., 1976 — Promotion of stipe elongation on *Flammulina velutipes* by a diffusate from excised lamellae supplied with nutrients. *Canad. J. Bot.* 54 : 1306-1315.

HAGIMOTO H., 1963 a — Studies on the growth of fruit-body of fungi. IV - The growth of the fruit-body of *Agaricus bisporus* and the economy of the mushroom growth hormone. *Bot. Mag. Tokyo* 76 : 256-263.

HAGIMOTO H., 1963 b — The mushroom growth hormone and the geotropic response of fruit-body in *Agaricus bisporus. Bot. Mag. Tokyo* 76 : 363-365.

HAGIMOTO H. et KONISHI M., 1959 — Studies on the growth of fruit-body of fungi. I. Existence of a hormone active to the growth of fruit-body in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Bot. Mag. Tokyo* 72 : 359-366.

HAGIMOTO H. et KONISHI M., 1960 — Studies on the growth of fruit-body of fungi. II. Activity and stability of the growth hormone in the fruit-body of *Agaricus bisporus* Lange) Sing. *Bot. Mag. Tokyo* 73 : 283-287.

HAMMOND J.B.W. et NICHOLS R., 1976 — Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. : changes in soluble carbohydrates during growth of mycelium and sporophore. *J. Gener. Microbiol.* 93 : 309-320.

Source : MNHN, Paris

HAWKER L.E., 1942 — The effect of vitamin $B_1$ on the concentration of glucose optimal for the fruiting of certain fungi. *Ann. Bot.* (G.B.) 6 : 631-636.

HAWKER L.E., 1966 — Environmental influences on reproduction. In AINSWORTH G.C. et SUSSMANN A.S. 1966 - The fungi, an advanced treatise, vol. II : The fungal organism. p. 435-469. *Academic Press, New York et Londres.*

HEIM R., 1977 — Termites et champignons. *Boubée éd.*, Paris.

HORIKOSHI T., KITAMOTO Y. et KASAI Z., 1973 — Distribution of the two respiratory enzymes in developing fruit-bodies of *Favolus arcularius* (Fr.) Ames. *Trans. Mycol. Soc. Jap.* 14 : 307-309.

HORRIERE F., 1976 — Influence sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. des concentrations en glucose et en asparagine, et de l'équilibre carbone-azote du milieu. *Mycopathologia* 58 : 81-89.

HORRIERE F., 1977 — Recherches physiologiques sur la fructification d'un Basidiomycète *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. : influence de quelques facteurs nutritionnels. Thèse Ingénieur-Docteur, Univ. Lyon I.

HUNI C., 1960 — Culture de la Pholiote du Peuplier *(Pholiota aegerita). C. R. Acad. Agric. Fr.* 46 : 77-81.

INGOLD C.T., 1960 — Dispersal in fungi. *Oxford University Press*, Londres.

KITAMOTO Y. et GRUEN H.E., 1976 — Distribution of cellular carbohydrates during development of the mycelium and fruit-bodies of *Flammulina velutipes. Plant Physiol.* 58 : 485-491.

KITAMOTO Y., TAKAHASHI M. et KAZAI Z., 1968 — Light induced formation of fruit-bodies in a basidiomycete *Favolus arcularius* (Fr.) Amer. *Plant Cell Physiol.* 9 : 797-805.

KLEBS G., 1898, 1899, 1900 — Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. *Jahrb. wiss. Bot.* 32 : 1-70; 33 : 513-593; 35 : 80-203.

KOCH W., 1958 — Untersuchungen über Mycelwachstum und Fruchtkörperbildung bei einigen Basidiomyceten *(Polyporus annosus, Polystictus versicolor, Pleurotus ostreatus,, Psalliota bispora). Arch. Mikrobiol.* 30 : 409-432.

KOMAGATA K. et OKUNISHI M., 1969 — Histochemical studies on the development of carpohpore of *Coprinus kimurae. J. Gen. Appl. Microbiol.* 15 : 231-237.

KOSKE R.E. et PERRIN P.W., 1971 — Basidiocarp, anneloconidia and sclerotina in agar cultures of *Pistillaria* (Clavariadelphaceae). *Canad. J. Bot.* 49 : 695-697.

KUHNER R., 1926 — Contribution à l'étude des Hyménomycètes et spécialement des Agaricacées. Thèse Sciences, Paris.

KUHNER R., 1977 — Variation of nuclear behaviour in the Homobasidiomycetes. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 68 : 1-16.

LANGE M., 1952 — Species concept in the genus *Coprinus. Dansk Botanik Arkiv.* 14 : 1-164.

LOHWAG K., 1952 — Zur Fruchtkörperbildung holzzerstörender höherer Pilze in Reinkultur. *Sydowia* 6 : 323-335.

LONG P.E. et JACOBS L., 1974 — Aspetic fruiting of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus. Trans. Brit. mycol. Soc.* 63 : 99-107.

LONG W.H. et HARSCH R.M., 1918 — Pure culture of wood-rotting fungi on artificial medium. *J. Agric. Res.* 12 : 33-82.

LU B.C., 1965 — The role of light in fructification of the Basidiomycete *Cyathus stercoreus. Amer. J. Bot.* 52 : 432-437.

LU B.C., 1972 — Dark dependence of meiosis at elevated temperatures in the Basidiomycete *Coprinus lagopus. J. Bacteriol.* (U.S.A.) 111 : 833-834.

LU B.C., 1974 — Meiosis in *Coprinus.* V. The role of light on basidiocarp initiation, mitosis and hymenium differentiation in *Coprinus lagopus. Canad. J. Bot.* 52 : 299-305.

Source : MNHN, Paris

Mac LAUGHLIN D.J., 1970 — Environmental control of fruit body development in *Boletus rubinellus* in axenic culture. *Mycologia* 62 : 307-331.

Mac LAUGHLIN D.J. et Mac LAUGHLIN E.G., 1972 — Pure culture studies of fruiting and sporulation in a clavaroid fungus *Pterula* sp. *Mycologia* 64 : 599-608.

MADELIN M.F., 1956 a — Studies on the nutrition of *Coprinus lagopus* Fr. especially as affecting fruiting. *Ann. Bot.* (G.B.) 20 : 307-330.

MADELIN M.F., 1956 b — The influence of light and temperature on fruiting of *Coprinus lagopus* in pure culture. *Ann. Bot.* (G.B.) 20 : 467-480.

MADELIN M.F., 1960 — Visible changes in the vegetative mycelium of *Coprinus lagopus*. Fr. at the time of fruiting. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 43 : 105-110.

MADHOSINGH C., 1967 — Light and temperature effects on growth and sporophore formation of *Lenzites trabea*. *Canad. J. Bot.* 45 : 525-530.

MALENÇON G., 1955 — Le développement du *Torrendia pulchella* Bres. et son importance morphogénétique. *Rev. Myc.* (Fr.) 20 : 81-130.

MANACHERE G., 1961 — Influence des conditions d'éclairement sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 252 : 2912-2913.

MANACHERE G., 1966 a — Asservissement à une nyctipériode de la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. en cultures éclairées. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 262 : 482-484.

MANACHERE G., 1966 b — Périodicité de la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. en cultures éclairées. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 262 : 2711-2714.

MANACHERE G., 1967 — Déroulement de la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. en relation avec les conditions d'éclairement. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 83 : 257-285.

MANACHERE G., 1968 a — Influence des conditions d'éclairement sur le déroulement des phénomènes cytologiques au cours de la sporogenèse de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 267 : 2111-2114.

MANACHERE G., 1968 b — Les rythmes de reproduction sexuée chez les champignons Basidiomycètes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 84 : 603-619.

MANACHERE G., 1970 — Recherches physiologiques sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. : action de la lumière ; rythme de production de carpophores. *Ann. Sci. Nat. Bot. et Biol. Vég.* (Paris) 11 : 1-95.

MANACHERE G., 1971 — Research on the fruiting rhythm of a basidiomycete mushroom *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. *J. interdisc. Cycle Res.* 2 : 199-209.

MANACHERE G., 1974 (paru 1976) — *Coprinus congregatus*, un modèle biologique pour l'étude de quelques problèmes généraux posés par la fructification des Champignons supérieurs. *Mushroom Science* 9 : 783-798.

MANACHERE G., 1976 — Substance (s) produite (s) par les carpophores mûrs de *Coprinus congregatus* et régularisatrice (s) du rythme de fructification du champignon ; délais nécessaires à leur libération. *Rev. Mycol.* (Fr.) 40 : 329-339.

MANACHERE G., 1977 — Modifications du rythme de fructification de *Coprinus congregatus* par le dépôt de carpophores mûrs exogènes à la surface des cultures. *Physiol. Plant* 39 : 201-205.

MANACHERE G. et ROBERT J.C., 1972 — Fruiting rhythm of a basidiomycete mushroom, *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. : Physiological significance of the variation of the rhythm periods in relation to culture temperature. *J. interdiscip. Cycle Res.* 3 : 135-143.

MANACHERE G., ROBERT J.C., BRET J.P. et HUGUENEY R., 1974 — Recherches physiologiques sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. Perspectives nouvelles. *Bull. Soc. Linnéenne Lyon*, 43ème année, n° spécial, travaux mycologiques dédiés à R. KUHNER : 255-283.

Source : MNHN, Paris

MARSH P.B., TAYLOR E.E. et BASSLER L.M., 1959 — A guide to the literature on certain effect of light on fungi: reproduction, morphology, pigmentation and phototropic phenomena. *Plant Dis. Rep.* (U.S.A.) suppl. 261 : 251-312.

MATTHEWS T.R. et NIEDERPRUEM D.J., 1972 — Differentiation in *Coprinus lagopus*. I. Control of fruiting and cytology of initial events. *Arch. Mikrobiol.* 87 : 257-268.

MATTHEWS T.R. et NIEDERPRUEM D.J., 1973 — Differentiation in *Coprinus lagopus*. II. Histology and ultrastructural aspects of developing primordia. *Arch. Mikrobiol.* 88: 169-180.

MILLER O.K., 1967 — The role of light in the fruiting of *Panus fragilis*. *Canad. J. Bot.* 45 : 1939-1943.

MILLER R.M. et LIBERTA A.E., 1972 — The effect of visible light on fruit body development in *Trametes extenuatus*. *Mycologia* 64 : 924-926.

MOORE D. et AL-GHARAWI A., 1976 — An elevated level of NADP-linked glutamate dehydrogenase is not a general feature of the caps of Agaric sporophores. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 66 : 149-150.

MORIMOTO N. et ODA Y., 1973 — Effect of light on fruit-body formation in a basidiomycete, *Coprinus macrorhizus*. *Plant Cell Physiol.* 14 : 217-225.

MOSS E.H., 1923 — Developmental studies in the genus *Collybia*. *Trans. R. Can. Inst.* 14 : 321-332.

NEWMAN D.A., 1968 — The influence of temperature and light on growth and sporulation of *Melanotus* sp. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 51 : 737-747.

NIEDERPRUEM D.J., 1963 — Role of carbon dioxide in the control of fruiting of *Schizophyllum commune*. *J. Bact.* 85 : 1300-1308.

NIEDERPRUEM D.J., HOBBS H. et HENRY L., 1964 — Nutritional studies of development in *Schizophyllum commune*. *J. Bact.* 88 : 1721-1729.

OKUNISHI M. et KOMAGATA K., 1975 — Histochemical studies on the development of carpophore of *Polyporus brumalis* (Pers. ex Fr.) Karst. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 21 : 211-216.

OYAMA Y., YOSHIDA T. et TAGUSHI H., 1974 (paru 1976) — The artificial cultivation of mycorrhiza-forming Basidiomycetes. *Mushroom Science* 9 : 719-731.

PARK J.Y. et AGNIHOTRI V.P., 1969 — Bacterial metabolites trigger sporophore formation in *Agaricus bisporus*. *Nature* 222 : 984.

PASSECKER F., 1959 — Kulturversuche mit Wildformen des Champignons und anderen Agaricaceen. *Mushroom Science* 4 : 477-483.

PERKINS J.H., 1969 — Morphogenesis in *Schizophyllum commune*. I. Effects of white light. *Plant. Physiol.* 44 : 1706-1711.

PLUNKETT B.E., 1953 — Nutritional and other aspects of fruit-body production in pure cultures of *Collybia velutipes* (Curt.) Fr. *Ann. Bot.* (G.B.) 17 : 193-217.

PLUNKETT B.E., 1956 — The influence of factors of the aeration complex and light upon fruit-body form in pure culture of an Agaric and Polypore. *Ann. Bot.* (G.B.) 20 : 563-586.

PLUNKETT B.E., 1958 — Translocation and pileus formation in *Polyporus brumalis*. *Ann. Bot.* (G.B.) 22 : 237-249.

PLUNKETT B.E., 1961 — The change of tropism is *Polyporus brumalis* stipes and the effect of directional stimuli on pileus differentiation. *Ann. Bot.* (G.B.) 25 : 206-223.

RAO P.S. et NIEDERPRUEM D.J., 1969 — Carbohydrate metabolism during morphogenesis of *Coprinus lagopus* (sensu Buller). *J. Bact.* 100 : 1222-1228.

RAPER J.R. et KRONGELB G.S., 1958 — Genetic and environmental aspects of fruiting in *Schizophyllum commune* Fr. *Mycologia* 50 : 707-740.

Source : MNHN, Paris

REIJNDERS A.F.M., 1963 — Les problèmes du développement des carpophores des Agaricales et de quelques groupes voisins. *Uitgeverij Dr. W. Jung, La Haye.*

ROBBINS W.J. et HERVEY A., 1960 — Light and the development of *Poria ambigua. Mycologia* 52 : 231-247.

ROBERT J.C., 1971 — Effet favorable d'une période froide sur la maturation de carpophores de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. inhibés par un éclairement continu. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 273 : 154-157.

ROBERT J.C., 1977 a — Fruiting of *Coprinus congregatus* : biochemical changes in fruit-bodies during morphogenesis. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 68 : 379-387.

ROBERT J.C., 1977 b — Fruiting of *Coprinus congregatus* : relationship to biochemical changes in the whole culture. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 68 : 389-395.

ROBERT J.C. et MANACHERE G., 1971 (paru 1973) — Influence de la température sur le rythme de fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. : remarques préliminaires. *C. R. 96ème Congrès National Soc. Savantes*, Toulouse, avril 1971, *Sciences* 3 : 119-129.

ROGERS M.A., 1973 — Photoresponses of *Coprinus stercorarius* : basidiocarp development and maturation. *Mycologia* 65 : 907-913.

SALAS J.A. et HANCOCK J.G., 1972 — Production of the perfect stage of *Mycena citricolor* (Berk. and Curt.) Sacc. *Hilgardia* (U.S.A.) 41 : 213-234.

SCHELD H.W. et PERRY J.J., 1971 — Studies on the formation of fruiting bodies in the basidiomycete *Lenzites saepiaria. J. Gen. appl. Microbiol.* 17 : 199-205.

SCHELER-CORRENS E., 1957 — Ueber die Fruchtkörperbildung von *Coprinus lagopus* bei verschiedenen Stickstoffquellen. *Arch. Mikrobiol.* 26 : 52-54.

SCHENCK E., 1919 — Die Fruchtkörperbildung bei einiger *Bolbitius* and *Coprinus*arten. *Beih. Bot. Zbl.* 36 : 355-413.

SCHWANTES H.O., 1968/1969 — Wirkung unterschiedlicher Stickstoffkonzentrationen und verbindungen auf Wachstum und Fruchtkörperbildung von Pilzen. *Mushroom Science* 7 : 257-272.

SCHWANTES H.O. et HAGEMAN F., 1965 — Untersuchungen zur Fruchtkörperbildung bei *Lentinus tigrinus* Bull. *Ber. dtsch. Bot. ges.* 78 : 89-101.

SMITH A.H., 1966 — The hyphal structure of the basidiocarp. In AINSWORTH G.C. et SUSSMAN A.S., 1966. The fungi, an advanced treatise, vol. II : The fungal organism. P. 151-177. *Academic Press, New York et Londres.*

STEWART G.R. et MOORE D., 1974 — The activity of glutamate dehydrogenases during mycelial growth and sporophore development in *Coprinus lagopus* (sensu Lewis). *J. Gener. Microbiol.* 83 : 73-81.

TABER W.A., 1966 — Morphogenesis in Basidiomycetes. In AINSWORTH G.C. et SUSSMAN A.S., 1966. The fungi, an advanced treatise, vol. II : The fungal organism. P. 387-412. *Academic Press, New York et Londres.*

TSCHIERPE H.J., 1959 a — Die Bedeutung des Kohlendioxyds für den Kulturchampignon. *Gartenbau-Wissenschaft* 24 : 18-75.

TSCHIERPE H.J., 1959 b — Der Einfluss von Kohlendioxyd auf die Fruchtkörperbildung und die Fruchtkörperform des Kulturchampignons. *Mushroom Science* 4 : 235-250.

TSCHIERPE H.J. et SINDEN J.W., 1964 — Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Kohlendioxyd für die Fruktifikation des Kulturchampignons, *Agaricus campestris* var. *bisporus* (L.) Lge. *Arch. Mikrobiol.* 49 : 405-425.

TSCHIERPE H.J. et SINDEN J.W., 1965 — Uber leicht flüchtige Produkte des aeroben und anaeroben Stoffwechsels des Kulturchampignons, *Agaricus campestris* var. *bisporus* (L.) Lge. *Arch. Mikrobiol.* 52 : 231-241.

TSUSUÉ Y.M., 1969 — Experimental control of fruit-body formation in *Coprinus macro-*

Source : MNHN, Paris

*rhizus. Development, Growth and Differentiation* 11 : 164-178.

TURIAN G., 1969 — Différenciation fongique. *Masson, Paris.*

TURNER E.M., 1974 — Phenoloxidase activity in relation to substrate and development stage in the mushroom, *Agaricus bisporus. Trans. Brit. mycol. Soc.* 63 : 541-547.

TURNER E.M., 1977 — Development of excised sporocarps of *Agaricus bisporus* and its control by $CO_2$. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 69 : 183-186.

UNO I. et ISHIKAWA T., 1971 — Chemical and genetical control of induction of monocaryotic fruiting-bodies in *Coprinus macrorhizus. Molec. gen. Genetics* 113 : 228-239.

UNO I. et ISHIKAWA T., 1973 — Purification and identification of the fruiting inducing substances in *Coprinus macrorhizus. J. Bact.* 113 : 1240-1248.

UNO I. et ISHIKAWA T., 1974 — Effect of glucose on the fruiting-body formation and adenosine 2', 5' -cyclic monophosphate levels in *Coprinus macrorhizus. J. Bact.* 120 : 96-100.

VIOT M., 1970 — Mise en évidence de corrélations de croissance au cours du développement des carpophores d'*Asterophora parasitica* (Bull. ex Fr.) Sing. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 270 : 790-792.

VIOT M., 1974 — Étude comparative du pouvoir de régénération de carpophores d'*Asterophora parasitica* (Bull. ex Fr.) Sing. développés à la lumière ou à l'obscurité. *C. R. Acad. Sci. Série D* (Paris) 278 : 265-268.

VOLZ P.A. et BENEKE E.S., 1969 — Nutritional regulation of basidiocarp formation and mycelial growth of Agaricales. *Mycopathol. Mycol. appl.* 37 : 225-253.

WESSELS J.G.H., 1965 — Morphogenesis and biochemical processes in *Schizophyllum commune* Fr. *Wentia* 13 : 1-113.

WOOD D.A., 1976 — Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *J. Gen. Microbiol.* 95 : 313-323.

WOOD D.A. et GOODENOUGH P.W., 1977 — Fruiting of *Agaricus bisporus.* Changes in extracellular enzyme activities during growth and fruiting. *Arch. Microbiol.* 114 : 161-165.

ZADRAZIL F., 1974 (paru 1976) — The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus, Pleurotus Florida, Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus Eryngii. Mushroom Science* 9 : 621-652.

ZUR LIPPE T. et NESEMANN G., 1959 — Ueber die Fruchtkörperbildung von *Merulius lacrymans domesticus* Falk. *Arch. Mikrobiol.* 34 : 132-148.

Ce mémoire a bénéficié, tant pour l'élaboration des figures que pour la dactylographie, de l'aide de Madame P. BUISSON, Melle A. EFFOSSE et Melle C. HALBEISEN, collaboratrices techniques du Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S. ou du Département de Biologie Végétale. Je les remercie très vivement de cet apport ainsi que de la qualité de leur travail.

Source : MNHN, Paris

# ORIGINE ET NATURE DE LA MYCOCÉCIDIE PROVOQUÉE PAR LE SPHACELOTHECA CRUENTA

par G. VIENNOT-BOURGIN *

SUMMARY. — The parasitic function of *Sphacelotheca cruenta*, obvious by the production of a vesicular cecidium typically structured around a columella, is conducted at the expense of *Sorghum halepense* inflorescences. The setting up of the cecidium which starts before the differentiation of the host sexual apparatus, results from the localisation of the parasitising mycelium at the level of the apical meristems of the plant and through important modifications of its tissues leading to an elongation of the floral pedicel to form the columella.

The columella, deeply penetrated by the fungal mycelium, aquires a new structure which enables to consider this organ as a nourishing tissue for the parasite. Fertile spores of *S. cruenta* are progressively formed centrifugally, starting from the columella, and not centripetally as preconceived by Ciferri (1938). Contrary to *S. hydropiperis* of the Polygonaceae, *S. cruenta* cannot be considered as an «ovarian smut».

## I. INTRODUCTION

Les Ustilaginales ou «charbons» appartenant au genre *Sphacelotheca* se comportent en parasites organotropiques de végétaux supérieurs appartenant aux familles des Graminées et des Polygonacées. L'infection résulte d'une contamination à partir du sol, aux dépens de la plantule, par des sporidies issues de la germination des spores incorporées à la terre ou adhérentes à la semence. La phase ultime du développement se traduit par la destruction de l'appareil floral de la plante-hôte, beaucoup plus rarement des tiges et des feuilles.

* Institut National Agronomique, Lab. de Path. Vég., 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris.



Source : MNHN, Paris

Sur les Graminées du genre *Sorghum*, suivant la localisation des sores, on considère des «charbons d'inflorescences» pour lesquels la panicule dans son ensemble (y compris le rachis) est soumise aux effets parasitaires. C'est le cas du *Sphacelotheca holci-sorghi* (Riv.) Cif. = *S. reiliana* (Kühn.) Clint. qui est une espèce cosmopolite susceptible de se développer aussi quelquefois aux dépens du Maïs, cette plante constituant d'ailleurs l'hôte-type (CIFERRI, 1938). Un autre aspect maladif, représenté pas plusieurs espèces, de répartition géographique très inégale, groupe des charbons classiquement désignés sous le nom de «charbons ovariens». Tels sont : *S. cruenta* (Kühn.) Potter = *S. holci* Jacks., répandu sur *Sorghum halepense* L. et *vulgare* L.; *S. occidentalis* (Seym.) Clinton, signalé aux États-Unis sur diverses espèces d'*Andropogon* et mentionné une seule fois sur le *Sorghum vulgare* L. en provenance d'Haïti; *S. sorghi* (Lk.) Clint., fréquemment confondu avec le *S. cruenta* dont on peut cependant le distinguer par des spores de plus petites dimensions. A ce groupe appartient aussi *S. sorghicola* (Speg.) Zundel qui, d'après LING (1953) serait un synonyme de *S. sorghi*, mais que NIEMANN (1962) reconnait cependant en tant qu'espèce séparable.

La mycocécidie produite au niveau d'une fleur isolée (charbon désigné ovarien) se caractérise par :

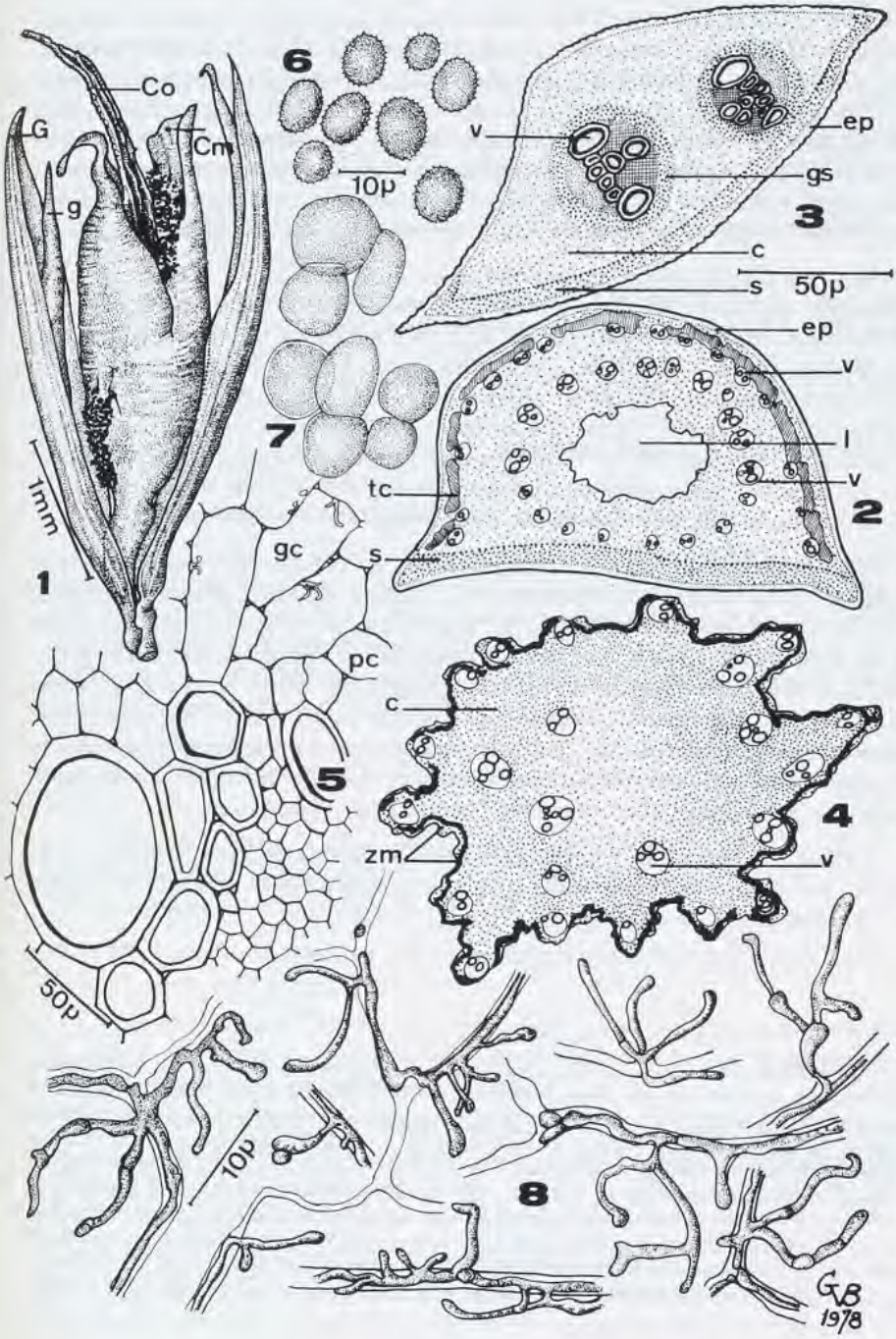
1) une enveloppe hyphale, tantôt coriace, tantôt ténue et friable, uniforme incolore ou faiblement jaunâtre, qui constitue le cortex. Celui-ci se fissure et éclate sous l'effet de pression qu'exerce la masse sporifère parvenue à maturité.

2) une columelle persistante, en position axiale, comprimée par l'amas sporifère dont les composants unicellulaires sont produits très régulièrement (fig. 1).

Ces particularités ont été signalées dès 1884 par DE BARY pour le *Sphacelotheca hydropiperis* (Schum.) de By. vivant aux dépens de fleurs de *Polygonum*. Elles sont retenues par tous les descripteurs qui ont suivi : CLINTON (1904), SCHELLENBERG (1911), CIFERRI (1938), AINSWORTH et SAMPSON (1950), FISCHER (1953), ZUNDEL (1963), ZAMBETTAKIS (1971). Bien que SCHELLENBERG attribue plus d'importance à l'existence d'une fausse membrane, ou cortex périphérique, qu'à la présence d'une columelle pour distinguer le genre *Sphacelotheca* du genre *Ustilago*, cet Auteur considère que la columelle a une origine mixte, résultant à la fois de la persistance des

**Planche I.** — 1: Conformation générale d'une cécidie produite par le *Sphacelotheca cruenta* sur le *Sorghum halepense*; G: glume, g: glumelle, Co: columelle, Cm: cortex d'origine mycélienne. 2: Coupe transversale réalisée dans la partie médiane du pédicelle d'une fleur saine; ep: épiderme, l: lacune, s: stéréome, tc: tissu chlorophyllien, v: éléments vasculaires. 3: Coupe dans le sommet d'un rachis immédiatement au-dessous d'une fleur saine; c: tissu conjonctif, ep: épiderme, gs: gaine sclérifiée, s: stéréome, v: vaisseaux. 4: Coupe dans la columelle d'une cécidie; c: tissu conjonctif homogène, v: ilôts vasculaires nombreux et non ordonnés, zm: zone à cellules mélanisées. 5: Détail du tissu conjonctif de la columelle montrant les petites cellules (pc) et les grandes cellules (gc), celles-ci en disposition rayonnante. 6: Spores fertiles. 7: Cellules stériles provenant de la dislocation du cortex. 8: Hyphes mycéliens et intracellulaires observés dans le tissu conjonctif de la columelle.

Source : MNHN, Paris




Source : MNHN, Paris

vaisseaux de l'axe floral et de la prolifération d'hyphes stériles qui renforcent la ténacité de cet axe. AINSWORTH et SAMPSON retiennent comme caractère essentiel déterminatif des *Sphacelotheca* la présence d'une fausse membrane, de nature fongique, qui enrobe le sore, et l'existence d'une columelle centrale. FISCHER décrit un péridium qui recouvre l'ovaire remplacé par la masse sporifère. Ce pseudo-tissu se fragmente lors de la maturation des spores pour donner des groupes ou des chaînes de cellules hyalines ou faiblement colorées, désignées «cellules stériles». Quant à la columelle, simple ou rameuse, elle est formée des restes vasculaires de l'hôte. Cette description correspond à celle établie par CIFERRI, reprise récemment en grande partie par ZAMBETTAKIS.

Ainsi tous les Auteurs s'accordent à reconnaître, dans l'édification de la columelle des sores de *Sphacelotheca*, la participation de l'axe floral de la plante-hôte. Il en résulte un organe d'abord inclus dans le sac sporifère, puis proéminent après l'éclatement du cortex. La columelle est, le plus souvent, d'apparence simple. On peut cependant noter que, pour le *S. destruens* (Schlecht.) Stev. et A.G. Johnson parasite de *Panicum miliaceum* L., la columelle se réduit à un ensemble de filaments disposés axialement, qui correspondent aux vestiges du tissu vasculaire, tandis que les autres tissus de soutien et les parenchymes se trouvent dilacérés au moment de la sporogénèse.

Pour les *Sphacelotheca* des Polygonacées, la cécidie peut être considérée comme le résultat d'une transformation de l'akène. En effet, ce sont les boutons floraux du *Polygonum hydropiper* L. qui hébergent le *S. hydropiperis*. Même après éclatement du sore, on peut reconnaître les vestiges du périanthe persistant qui, avec les lambeaux du cortex, forment une sorte de cupule à la base de la cécidie. De multiples dissections florales nous ont en outre permis de reconnaître des fragments du périanthe et une partie des étamines. Dans ce cas, il s'agit bien d'un «charbon ovarien» dont on connaît de nombreux exemples parmi les Ustilaginales et en particulier dans le genre *Ustilago*.

L'étude du *Sphacelotheca cruenta*, hébergé par le *Sorghum halepense*, nous incite, par contre, à formuler des conclusions très différentes quant à l'origine et à la structure de la cécidie. (1)

(1) Indépendamment des caractères génériques que nous avons reconnus sur les spécimens étudiés qui proviennent du Moyen-Orient (Iran et Turquie), l'identification exacte du parasite a été réalisée en conformité avec les termes de la description première. Nous avons observé les spores fertiles (fig. 6) à paroi finement échinulée, mesurant en moyenne 6 à 10 $\mu$m; ainsi que les cellules stériles (fig. 7) provenant de la dislocation du cortex, hyalines, réunies en petits groupes ou, au contraire, isolées, de dimensions variables, mesurant de 10 à 18 $\mu$m. La relation entre le parasite et les tissus parenchymateux de la columelle s'établit par des hyphes mycéliens qui glissent (fig. 8) entre les cellules en produisant de nombreux diverticules franchissant la paroi pour s'épanouir ensuite en palmettes ou en arborescences au sein du contenu cellulaire. On distingue sur leur parcours des cloisons transversales.

Source : MNHN, Paris

## II. CONFORMATION DES PANICULES PARASITÉES

L'inflorescence du *Sorghum halepense* est une panicule d'épis lâches composés eux-mêmes d'épillets géminés ou ternés. La composition de chaque épi est caractéristique. On trouve en effet, à la base, un épillet hermaphrodite oblong-lancéolé, sessile, très reconnaissable, à l'état jeune, aux deux longs stigmates plumeux roux-violacé qui émergent des enveloppes florales. A cet épillet, dans lequel se forme le caryopse, fait suite un ou deux épillets mâles plus grêles et pédicellés. En fin de compte, chaque épillet ne comporte donc qu'une seule fleur fertile.

Ces précisions sur la structure florale sont nécessaires pour comprendre la disposition et la croissance de la mycocécidie due au *Sphacelotheca cruenta*.

L'examen des panicules parasitées par le *S. cruenta* permet de constater qu'il en existe de deux types :

a - panicules grandes, pyramidales, largement étalées, à rameaux allongés, ramifiés, bien distincts;

b - panicules contractées, à rameaux rassemblés en pinceau.

Ces deux aspects ne sont pas liés à la présence du parasite, ils apparaissent normalement sur les plantes saines et correspondent à deux états physiologiques différents. Aussitôt après l'anthèse, les rachis secondaires et les pédicelles se rassemblent. Ce phénomène, très apparent dans le cas des *Sorghum*, se retrouve également chez d'autres genres de Graminées tels que les *Imperata*, *Calamagrostis* et même les *Phleum* et *Dactylis*.

En tenant compte de ce que, en moyenne, chaque épi normalement développé comprend 3 épillets, et que le premier épillet est biflore, on obtient la succession florale suivante :

- 1er épillet : 2 fleurs hermaphrodites + 1 rudiment stérile;
- 2ème épillet : 1 fleur mâle;
- 3ème épillet : 1 fleur mâle, le plus souvent avortée.

Si l'on examine maintenant un fragment comparable d'une panicule envahie par le charbon, on constate que :

a - Toutes les fleurs, quelle soient hermaphrodites ou seulement unisexuées, ou encore totalement avortées, sont remplacées par un sac sporifère inclus entre les glumes et les glumelles non modifiées.

b - Ce sac sporifère se présente comme un corps ovoïde, de 2 à 4 mm de long, de près de 1 mm dans sa plus grande largeur, inséré directement sur le rachis selon une base relativement large qui est comprimée par les enveloppes florales. Il est limité par un cortex friable à son sommet (fig. 1).

c - La cécidie est solidement implantée sur le rachis.

d - La dissection des fleurs des premiers épillets, qui normalement produisent un caryopse, ne permet pas de déceler ni des restes de la paroi ovarienne,

Source : MNHN, Paris

ni des filets staminaux. Or dans de nombreuses cécidies florales provoquées par des Ustilaginales, nous avons, pour d'autres espèces, montré que la croissance de l'ovaire modifié par le rassemblement hyphal ne s'accompagne pas toujours de la destruction de l'androcée. Il est même des cas extrêmes où la tumeur dans laquelle se constituent les spores est strictement localisée aux étamines. Il se produit alors généralement une hypertrophie des anthères; celles-ci se gonflent en vésicules fragiles.

C'est ce que l'on perçoit, bien avant l'époque de la floraison, pour l'*Ustilago dianthorum* Liro et l'*U. superba* Liro des *Dianthus*, ou pour l'*Ustilago violacea* (Pers.) Roussel sur *Saponaria officinalis* L. Dans d'autres cas, on constate un développement anormal de l'androcée qui n'est cependant pas directement intéressée dans l'évolution du parasite. Un exemple en est donné par l'importance que prennent les rudiments staminaux des fleurs femelles du *Melandryum pratense* Roehl. parasitées par le *Sorosporium melandryi* Syd. Des étamines desséchées restent appliquées latéralement au caryopse du Blé modifié par *Tilletia caries* (D.C.) Tul. ou lorsqu'il est partiellement détruit par l'*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr. (VIENNOT-BOURGIN, 1937, 1946, 1956). Les étamines consolident la cécidie du *Sorosporium formosanum* (Saw.) Saw. dans les inflorescences du *Panicum repens* L., ou celles du *Sorosporium loudetiae* Vienn.-Bourg. qui produit un filament tubulaire dans les fleurs de *Loudetia* sp. (VIENNOT-BOURGIN, 1951).

En conclusion de cette analyse des panicules parasitées et de la conformation de la cécidie provoquée dans les fleurs du *Sorghum halepense* par le *Sphacelotheca cruenta*, on peut concevoir que la localisation de la tumeur se situe dans les méristèmes, c'est-à-dire au niveau des groupements de cellules en voie de prolifération active, et non pas aux dépens de la masse ovarienne. Le phénomène parasitaire, qui prolonge la croissance mycélienne au travers des mérithalles successifs et se traduit par l'édification de la cécidie, intervient avant la différenciation de l'appareil sexuel. Cette localisation apicale précoce permet d'expliquer pourquoi les fleurs complètes, ou celles qui sont unisexuées ou avortées, sont indifféremment remplacées par un sac sporigène fixé directement sur le rachis. Cette interprétation est en conformité avec le fait que la columelle de la cécidie doit être considérée comme le prolongement du rachis.

## III. STRUCTURE DE LA COLUMELLE

Si l'on admet que la columelle de la cécidie résulte d'une élongation du rachis, ce qui assure la continuité de développement ascendant du mycélium du parasite selon sa tendance organotropique, une comparaison d'ordre anatomique de ces deux organes, rachis et columelle, peut apporter quelques éclaircissements sur la manière dont se constitue cet axe qui supporte la masse sporifère.

A cet effet, nous avons pratiqué des sections transversales, d'une part dans le pédicelle au niveau médian, puis immédiatement au-dessous du point d'in-

Source : MNHN, Paris

sertion d'une fleur saine, et d'autre part dans la partie la plus épaisse de la columelle d'une cécidie. Les trois séries de coupes ont été traitées par les méthodes histologiques classiques.

A. Section transversale dans un pédicelle normal (fig. 2)

C'est un organe à peu près hémicirculaire avec un méplat prononcé qui correspond à la partie dorsale de l'épillet. Sa plus grande largeur atteint 200$\mu$m. On y distingue, de l'extérieur à l'intérieur, un épiderme formé de cellules oblongues, fortement imbriquées, à peu près isodiamétriques et à parois épaisses et sinueuses. Ces cellules constituent une couche très régulière, qui n'est interrompue que par quelques rares stomates. Au-dessous de l'épiderme se situe le parenchyme chlorophyllien sous la forme d'une bande discontinue et étroite, disposée en arc. Du côté du méplat cette assise disparaît; elle est remplacée par un tissu de soutien, de nature scléreuse, désigné quelquefois sous le nom de stéréome.

Appuyé au parenchyme chlorophyllien, ou se confondant avec lui, se trouve le cercle le plus externe des faisceaux vasculaires, composé de très petits éléments (de 10 à 16 faisceaux).

Plus à l'intérieur et occupant la majeure partie de la coupe se situe un tissu conjonctif faiblement sclérifié, très homogène, qui disparaît vers le centre de l'organe pour faire place à une lacune. C'est dans ce tissu qu'est disposée la série la plus interne des éléments vasculaires bien différenciés, chacun d'eux étant entouré d'une gaine sclérifiée (de 18 à 22 faisceaux).

B. Section du pédicelle au-dessous de l'insertion d'une fleur mâle (fig. 3)

A ce niveau, le pédicelle acquiert une section lenticulaire, dont le grand axe atteint 300$\mu$m tandis que le petit axe varie entre 100 et 125$\mu$m. La structure anatomique reste comparable à ce que nous avons observé dans les premières sections, par contre le parenchyme chlorophyllien a disparu. Quant au tissu conducteur, il n'est plus représenté que par deux gros faisceaux symétriques et opposés entourés par une gaine scléreuse qui se distingue nettement du tissu conjonctif lui-même fortement sclérifié. La lacune centrale persiste mais elle est réduite. Le stéréome se définit par une mince bande à peine distincte dans certaines coupes.

C. Section dans la partie moyenne de la columelle (fig. 4)

Observée superficiellement, la columelle, débarrassée de la gaine sporifère qui l'entoure, présente une surface cannelée. Elle est dépourvue de symétrie axiale. En coupe transversale, elle apparaît constituée essentiellement d'un parenchyme peu différencié qui occupe toute la surface de la coupe, y compris l'emplacement de la lacune centrale qui a disparu. Ce parenchyme est formé de cellules polyédriques petites et régulières à proximité des éléments vasculaires, tandis qu'ailleurs on observe des cellules allongées, souvent disposées

Source : MNHN, Paris

en files rayonnantes (fig. 5). Les parois, de nature cellulosique, minces, délimitent des méats. Ce tissu conjonctif soutient les faisceaux conducteurs au nombre de 20 à 24 selon les coupes; ce qui correspond approximativement au nombre de faisceaux comptés sur la série interne dans un pédicelle normal. La disposition vasculaire a perdu sa régularité, qui a été constatée dans les deux sections précédentes. On ne distingue plus comme avant une stèle externe composée de petits faisceaux et un cercle interne sur lequel sont disposés de gros faisceaux.

La périphérie de la columelle ne correspond plus à celle d'un organe à section hemi-circulaire ou lenticulaire, mais apparaît profondément cisaillée. Le tissu conjonctif, à parois laminées et fortement mélanisées vers l'extérieur, abondamment envahi dans toute son étendue par les hyphes du champignon, disparaît progressivement, ne restant en place qu'autour des faisceaux dont certains se détachent de la masse tissulaire, ce qui explique l'aspect cannelé de la surface de la columelle (fig. 4, 6, 7 et 8). Enfin, même dans des tumeurs à peine développées, la columelle ne comporte pas d'épiderme. Celui-ci semble avoir été érodé dans les tous premiers stades de la sporogénèse.

Si l'on compare les données anatomiques qui résultent de sections faites à différents niveaux dans le pédicelle d'une fleur indemne de *Sorghum* et dans la columelle qui constitue l'axe de la cécidie provoquée par le *Sphacelotheca cruenta*, on constate que :

1. La réduction vasculaire qui s'opère normalement non loin de l'insertion florale, dans le cas des fleurs saines, ne se produit pas au niveau de la columelle.

2. Le tissu conjonctif sclérifié qui constitue l'élément de soutien du rachis normalement développé, est remplacé, dans la columelle, par un tissu homogène, de nature parenchymateuse, qui provient d'une transformation induite par le parasite. La fonction de soutien de l'organe qui se constitue dans le prolongement de l'axe floral est assurée dans ce cas par le système vasculaire.

3. Ce parenchyme est une néoformation jouant le rôle de «tissu nourricier» aux dépens duquel se réalise la prolifération hyphale aboutissant à la production des spores.

## IV. RÉSUMÉ ET CONCLUSION

La fonction parasitaire du *Sphacelotheca cruenta* aux dépens des inflorescences du *Sorghum halepense* se traduit par la production d'une cécidie vésiculeuse typiquement structurée autour d'une columelle.

L'édification de cette cécidie résulte de la localisation du mycélium parasite au niveau des méristèmes apicaux et de modifications tissulaires importantes. Elle débute avant toute différenciation de l'appareil sexuel. Elle se traduit par l'allongement du pédicelle floral pour former la columelle.

La columelle, profondément pénétrée par le mycélium, acquiert une structure nouvelle qui permet de considérer cet organe comme un tissu nourricier pour

Source : MNHN, Paris

le parasite.

Les spores fertiles du *S. cruenta* sont formées progressivement, en position centrifuge (et non pas centripète, comme l'envisageait CIFERRI, 1938) à partir de la columelle.

Le *Sphacelotheca cruenta*, à l'inverse du *S. hydropiperis* des Polygonacées, ne peut être considéré comme un «charbon ovarien».

## BIBLIOGRAPHIE

AINSWORTH G.C. et SAMPSON Kathleen, 1950 — *The British smut fungi (Ustilaginales).* Kew, 137 p.

CIFERRI R., 1938 — Flora italica cryptogama. Pars I.: fungi Ustilaginales. *Soc. Botanica italiana* fasc. 17, 443 p.

CLINTON G.P., 1904 — North american Ustilagineae. *Proc. Boston Soc. of Natural History* 31, 9 : 329-529.

FISCHER G.M., 1953 — *Manuel of north american smut fungi.* Ronald Press Company, New York, 343 p.

LING L., 1953 — The Ustilaginales of China. *Farlowia* 4 : 305-351.

NIEMANN E., 1962 — Ustilaginales. In: SORAUER P., 1962 - Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. 3, 4. Lieferung, Ed. Paul Parey, Berlin et Hamburg : 276-528.

SCHELLENBERG H.C., 1911 — Die Brandpilze der Schweiz. *Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz*, Berne, 180 p.

VIENNOT-BOURGIN G., 1937 — *Les déformations parasitaires provoquées par les Ustilaginées.* Ed. Le François, 189 p.

VIENNOT-BOURGIN G., 1949 — *Les champignons parasites des plantes cultivées.* Ed. Masson, 1848 p.

VIENNOT-BOURGIN G., 1951 — Étude morphologique de quelques lésions charbonneuses des végétaux. *Annales Épiphyties* 3-4 : 456-478.

VIENNOT-BOURGIN G., 1956 — *Mildious, oidiums, caries, rouilles des plantes de France.* Éd. Lechevalier, 317 p.

ZAMBETTAKIS C., 1971 — Les Ustilaginales des plantes d'Afrique. *Bull. Soc. mycol. de France* 86, n° 2 : 1-388.

ZUNDEL G.L.I., 1930 — Monographic studies of the Ustilaginales attacking *Andropogon. Mycologia* 22 : 125-158.

ZUNDEL G.L.I., 1963 — The Ustilaginales of the world. *Pennsylvania State College*, 410 p.

Source : MNHN, Paris

# AVEC L'AIDE DU TEMPS...

Il me souvient que quand j'avais vingt ans, rencontrer une plante dont je ne savais pas le nom m'était une espèce d'injure, et je fouillais aussitôt les flores et les atlas pour pouvoir la nommer. J'étais à Lyon où je n'étudiais que les lettres, mais mon plaisir était de m'arracher au grec et au latin pour filer au Parc de la Tête d'Or, et de passer de longs loisirs dans les serres à apprendre les Orchidées ou au jardin alpin pour connaître la flore de nos montagnes. Il en allait de même pour les champignons, dont la passion me tourmentait depuis longtemps, mais c'était bien plus difficile, car à cette époque, un garçon de mon âge ne disposait que d'une littérature bien maigre, et si je n'avais pas rencontré de temps en temps Frédéric Bataille, j'aurais sans doute abandonné.

En tous cas, il est arrivé que peu à peu et comme en me jouant, j'ai emmagasiné au cours des ans des centaines puis sans doute trois ou quatre milliers de noms de plantes diverses et de champignons, grâce à une mémoire d'éléphant, comme on dit, pour les nomenclatures. Et dire que je n'ai jamais pu apprendre par coeur dix vers de suite, ni me rappeler le numéro de ma voiture ou de mon téléphone! Il faut croire qu'il y a diverses formes de mémoire, et il est sage de prendre la sienne comme elle est pour l'utiliser au mieux des circonstances.

Ainsi, dans ma jeunesse, j'ai acquis avec une sorte de fureur des noms à n'en plus finir. Ils étaient bien rangés dans ma tête, et j'avais le sentiment de savoir des tas de choses qui échappaient à mes camarades d'étude, ou même à mes professeurs. C'est ainsi qu'un jour l'un d'eux nous avait traduit «*mensa citri*» par «table en citronnier». J'avais osé l'interrompre pour lui dire que le *Citrus* des Romains était un *Thuya*, et non pas un citronnier dont ils ignoraient l'existence. J'aurais mieux fait de me taire, car comme j'avais raison, il ne me l'a jamais pardonné et j'étais devenu sa bête noire.

Pour les champignons, à force de déterminer ou de me faire déterminer des espèces, et à force de visiter des expositions, j'ai vu et appris beaucoup, et comme tant d'autres j'ai mon catalogue personnel dans la cervelle. Cette longue liste, à laquelle je songe souvent, quelquefois même en rêve, m'a suffi pendant des années, et m'a donné bien du plaisir. Quand il m'arrivait de ne penser à rien, je reprenais en esprit toutes mes Amanites, ou tous mes Bolets, ou tous mes Hygrophores. D'autres fois, j'essayais de me rappeler tous les Inocybes que je connaissais vraiment, mais c'était infiniment plus difficile, et leurs images se confondaient fâcheusement sur l'écran du souvenir. De même pour les Cortinaires, car ils sont trop. N'empêche qu'aujourd'hui encore, si je tombe dans mes forêts sur une espèce jamais vue, je cherche jusqu'à ce que j'aie trouvé un nom, ou une approximation au moins. Bien souvent, en attendant

Source : MNHN, Paris

de rencontrer un spécialiste qui me donnera le binôme exact, je me contente avec regret de laisser l'image avec tous les caractères dans une réserve, jusqu'au jour où se fera la lumière.

Mais l'avourai-je? Avec le temps, ma rage de déterminer à tout prix s'amenuise. Sans doute suis-je toujours heureux quand je peux donner un nom authentique à une forme mystérieuse, mais je me dis en même temps qu'elle est probablement très rare, puisque je ne l'ai jamais vue, et que le calcul des probabilités veut que je ne la revoie jamais. Alors un découragement me prend, et je repasse toutes les espèces rares que je n'ai vues qu'une fois, et que sûrement je ne rencontrerai plus.

C'est pourquoi peut-être, au lieu de cette spécification à tout prix, j'en suis venu peu à peu à considérer toutes les espèces à moi connues comme une sorte de réservoir où trouver matière à réflexion. Et ma réflexion en est venue à des conclusions assez désespérées. C'est la mode aujourd'hui de publier des livres où on raconte «Ce que je crois». Il en est d'excellents exemples. Jamais je n'écrirai un livre de ce genre, parce que ce que je pense n'a aucune importance et serait sûrement trop loin de la pensée d'aujourd'hui. Mais sur les champignons, il m'arrive malgré moi d'avoir des «idées».

Je ne sais si tout le monde est dans le même cas, mais je ne pense pas ce que je veux, et les idées germent en moi à mon insu et souvent malgré moi. Ainsi je voudrais de tout mon coeur que la notion d'espèce soit une idée claire, et les derniers travaux des spécialistes, en attendant les autres, nous avertissent qu'il n'en est rien, que beaucoup d'espèces sont collectives, ou instables, ou transitoires, et que s'y fier est une grave imprudence. Je songe aux Lactaires «*dapetes*». Quand j'étais jeune, il y avait *L. deliciosus*, et *sanguifluus*. Maintenant qu'on les a regardés de près il y en a sept ou huit, et l'autre année en Espagne où ils croissaient tous côte à côte, je n'ai plus osé en nommer un seul. Depuis cette expérience, j'ai renoncé, et je me contente paresseusement de me dire qu'il doit y avoir quelque part un spécialiste qui les connaît et qui peut en débrouiller l'écheveau. Pour tout ce qui me dépasse, je me repose sur la science des autres. Voyez les Ascomycètes. Ils sont rares dans mon secteur, si bien que j'en ai peu vu et que j'en connais moins encore. Et comme les spécialistes des Ascomycètes d'habitude connaissent peu tout le reste, je me dis qu'on ne peut pas tout faire ni tout savoir, et qu'il faudrait vivre deux ou trois fois pour pouvoir prétendre au titre de mycologue véritable. Je suis d'ailleurs tout à fait partisan de la réincarnation, au moins pour les naturalistes. Théophraste gémissait déjà sur les erreurs de la Nature qui a donné deux siècles d'existence aux tortues, dont elles n'ont que faire, alors que les hommes commencent tout juste à comprendre quelque chose quand il leur faut mourir. Je suis sûr que si un homme politique mettait la réincarnation à son programme, au moins tous les savants du monde voteraient pour lui.

Bien entendu, on en vient aussi à réfléchir à la notion de genre. En phanérogamie, elle est presque évidente. Mais dans notre pauvre mycologie, elle en a vu de rudes depuis quelque temps. On en est au point de se demander si le genre existe encore, ou s'il faudra un jour ne plus compter que des espèces

Source : MNHN, Paris

dont on ne saura même plus ce qu'elles sont. Mais au vu de toutes ces pulvérisations inutiles, j'en viens à me dire qu'on aura beau faire, les Lépiotes sont parfaitement définissables et ne sont que des Lépiotes, comme les Bolets sont tous, ou à peu près, des Bolets.

En débutant, ces questions n'effleurent même pas l'esprit, qui fait absolument confiance aux Maîtres d'autrefois et d'aujourd'hui. Mais avec le temps, et à mesure qu'on sait davantage, on mesure mieux la vanité de la plupart de nos certitudes et les noms des espèces qui vous dansent dans la tête y cherchent un ordre qu'on voudrait toujours plus raisonnable et plus simple. Si la Nature a un secret, c'est bien celui-là. Il nous semble qu'il y a derrière les phénomènes une règle, et que c'est notre devoir de la trouver. Et quand nous en trouvons une, aussitôt quelqu'un en trouve une autre, de sorte que chaque jour en apporte une nouvelle qui périme les précédentes. Cependant, la Nature s'en moque, et continue doucement à produire des Inocybes et des Drosophiles auxquelles nous ne comprenons rien, soit que tout cela soit hors des possibilités de notre intelligence, soit qu'il n'y ait rien à comprendre. Mais l'illusion de comprendre est déjà tellement réconfortante en elle-même que nous aurions tort de nous en priver, et il se peut que cette tentative de mettre de l'ordre dans ce qui n'en comporte pas soit notre plus grande noblesse. Il s'agit là d'un travail infini, et nous n'en verrons pas le bout. Mais nous aurons tous tissé quelques mailles de ce tapis de Pénélope, en attendant qu'un génial Ulysse arrive pour y mettre le dernier point.

G. Becker

Commission paritaire n° 58611 22 novembre 1976
Dépôt légal : n° 645 - Juillet 1978 - Imp. Vial, 91410 Dourdan

Source : MNHN, Paris